

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
8 janvier 2004 (08.01.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/002953 A2

- (51) Classification internationale des brevets⁷ : **C07D** [FR/FR]; 7, allée du Pré Clair, F-91190 Gif-sur-Yvette (FR).
- (21) Numéro de la demande internationale : PCT/FR2003/001979 (74) Mandataire : **GUERRE, Fabien**; Brevatome, 3, rue du Docteur Lancereaux, F-75008 Paris (FR).
- (22) Date de dépôt international : 26 juin 2003 (26.06.2003)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :
02/08081 28 juin 2002 (28.06.2002) FR
- (71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) : **COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE** [FR/FR]; 31/33, rue de la Fédération, F-75752 Paris 15ème (FR). **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE** [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR).
- (72) Inventeurs; et
- (75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **MIOSKOWSKI, Charles** [FR/FR]; 14, rue Baudaire, F-67200 Strasbourg (FR). **LE GALL, Thierry** [FR/FR]; 82, rue Pierre Brossolette, Bâtiment A, Escalier 5, F-92320 Chatillon (FR). **DESAGE, Marine** [FR/FR]; 12bis, rue Vavin, F-75006 Paris (FR). **MEUNIER, Stéphane** [FR/FR]; 1, rue Cassini, F-75014 Paris (FR). **NOWACZYK, Stéphanie** [FR/FR]; 49, rue Martial Boudet, F-92370 Chaville (FR). **TARAN, Frédéric**
- (81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Publiée :**
— *sans rapport de recherche internationale. sera republiée dès réception de ce rapport*
- En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.*

(54) Title: LACTONE COMPOUNDS, FOR USE AS ANTIOXIDANT AGENTS IN PHARMACEUTICAL, COSMETIC OR FOOD COMPOSITIONS AND METHOD FOR PREPARING SAME

(54) Titre : COMPOSES LACTONES, UTILISABLES EN TANT QU'AGENTS ANTIOXYDANTS DANS DES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES, COSMETIQUES OU ALIMENTAIRES ET LEUR PROCÉDE DE PREPARATION

(57) Abstract: The invention concerns specific lactone compounds, for use as antioxidant agents in pharmaceutical and cosmetic compositions or in food products, said compounds comprising a naphthalene ring whereon are grafted two lactone motifs.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet des composés lactones particuliers, pouvant être utilisés en tant qu'agents antioxydants dans des compositions pharmaceutiques, cosmétiques ou dans des produits alimentaires, lesdits composés comportant un noyau naphthalène sur lequel sont greffés deux motifs lactones.



WO 2004/002953 A2

u/p/m

1

COMPOSÉS LACTONES, UTILISABLES EN TANT QU'AGENTS
ANTIOXYDANTS DANS DES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES,
COSMÉTIQUES OU ALIMENTAIRES ET LEUR PROCÉDÉ DE
PRÉPARATION

5

DESCRIPTION

DOMAINE TECHNIQUE

La présente invention a trait à des
composés lactones particuliers, pouvant être utilisés
10 en tant qu'agents antioxydants pour la fabrication de
compositions antioxydantes, en particulier de
compositions pharmaceutiques, cosmétiques ou
alimentaires.

La présente invention a également trait à
15 un procédé de préparation de tels composés.

Le domaine général de l'invention est donc
celui des antioxydants.

ETAT DE LA TECHNIQUE

20

Les antioxydants ont pour particularité de
capter les radicaux libres, qui sont des molécules très
réactives intervenant dans de nombreuses pathologies,
en particulier les pathologies découlant d'un stress
25 oxydant, comme par exemple, les maladies
inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le
diabète.

Ainsi, certains antioxydants peuvent être
utilisés pour leur activité anti-inflammatoire, en
30 particulier les antioxydants permettant d'inhiber la

production de cytokines pro-inflammatoires tels que le facteur TNF- α , dans les macrophages et les monocytes.

Les antioxydants peuvent également intervenir dans la protection des cellules, en limitant
5 le déclenchement du programme génétique de mort cellulaire ou apoptose, pouvant être engendré par une accumulation de radicaux libres.

Plusieurs antioxydants d'origine naturelle
10 ont fait l'objet également d'évaluations quant à leur action contre le cancer. Ainsi, dans l'article de M.Jang et al, « Cancer Chemoprotective Activity of Resveratrol, a natural product derived from grapes », Science 1997, 275, 218-220 [1], le résvératrol, une
15 phytoalexine antioxydante extraite du raisin est décrite comme présentant une activité préventive contre le cancer sur des modèles animaux. L'article de M.V Eberhardt et al. « Antioxydant Activity of Fresh Apples », Nature 2000, 405, 903-904 [2] démontre que
20 des extraits de pomme testés sur des lignées cellulaires anticancéreuses engendrent, de même, une activité antiproliférative in vitro de ces lignées.

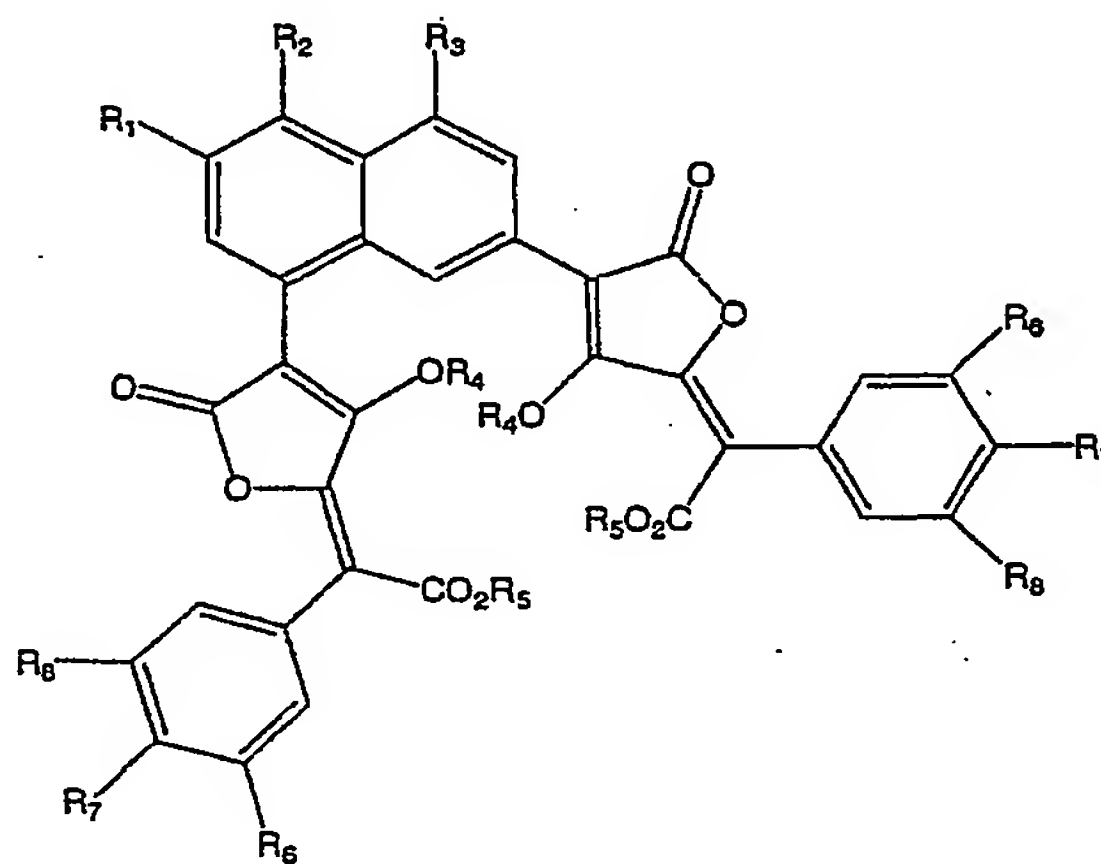
Enfin, des études, telles que celles publiées dans l'article de T.Finkel et al. « Oxydants,
25 Oxidative Stress and the biology of ageing », Nature 2000, 408, 239-247 [3] ont également mis en évidence les liens entre stress oxydant et vieillissement cellulaire. De ce fait, on peut envisager d'incorporer des antioxydants dans des compositions cosmétiques,
30 destinés à capter les radicaux libres responsables, notamment de l'apparition de rides.

EXPOSÉ DE L'INVENTION

Le but de la présente invention est de proposer des composés lactones particuliers, dont certains sont nouveaux, utilisables, de manière
 5 particulièrement efficaces en tant qu'agents antioxydants pour la fabrication de compositions antioxydantes, telles que des compositions pharmaceutiques, cosmétiques, et alimentaires.

Le but de la présente invention est de
 10 proposer également un procédé de préparation de composés lactones conformes à l'invention.

Ainsi, la présente invention a trait, selon un premier objet, à des composés répondant à la formule
 15 (I) suivante :



(I)

dans laquelle :

- les R₁, R₆, R₇ et R₈, identiques ou
 20 différents, représentent H, -OH ou -OR₉ ;
- R₂ représente H, -OH ou -OR₉ ; R₃ représente H, R₉, -CO₂R₉ ou -CO-NHR₁₀ ; ou R₂ et R₃ forment ensemble -O-CO- ;

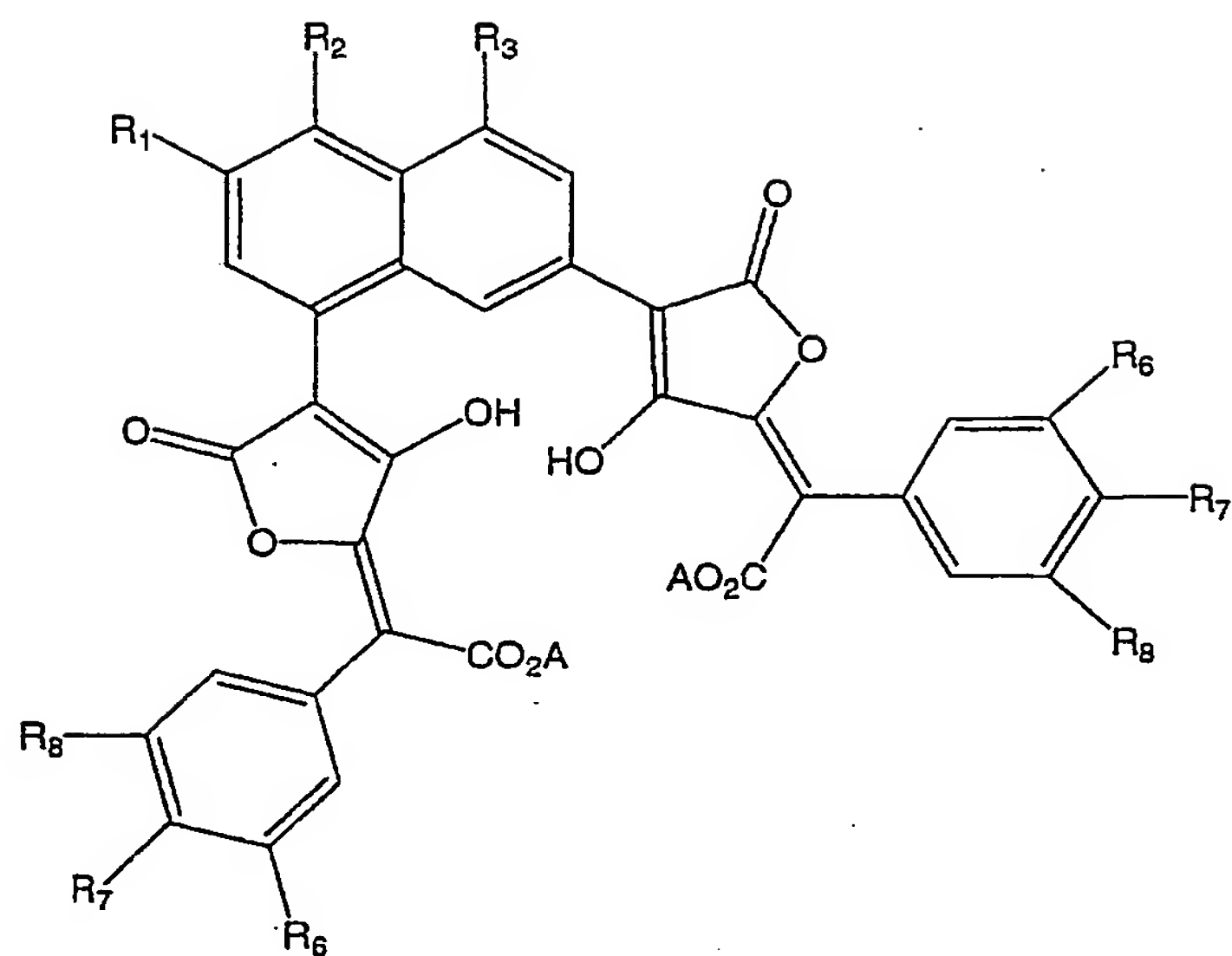
- les R_4 et R_5 , identiques ou différents, représentent H ou R_9 ;
- R_9 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 20 atomes de carbone ;
- 5 - R_{10} représente R_9 ou un groupe $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$, avec a et b , identiques ou différents, étant des entiers allant de 2 à 4 ;
et les sels de ces composés ;
à l'exception :
- 10 - du composé pour lequel R_2 et R_3 forment ensemble un groupe $-OCO-$, les R_4 , R_5 , R_6 et R_8 représentent H, les R_1 et R_7 représentent $-OH$ et les disels de potassium correspondant à ce composé ;
- du composé dans lequel R_2 et R_3 forment ensemble un groupe $-O-CO-$, les R_1 et R_7 représentent $-OCH_3$, les R_4 et R_5 représentent $-CH_3$ et les R_6 et R_8 représentent H ;
- 15 - du composé dans lequel les R_1 , R_2 et R_7 représentent $-O-CH_3$, R_3 représente $-CO_2CH_3$, les R_4 et R_5 représentent CH_3 et les R_6 et R_8 représentent H.
- 20

Comme cela est mentionné ci-dessus, l'invention comprend également les sels éventuels correspondant aux composés tels que définis ci-dessus.

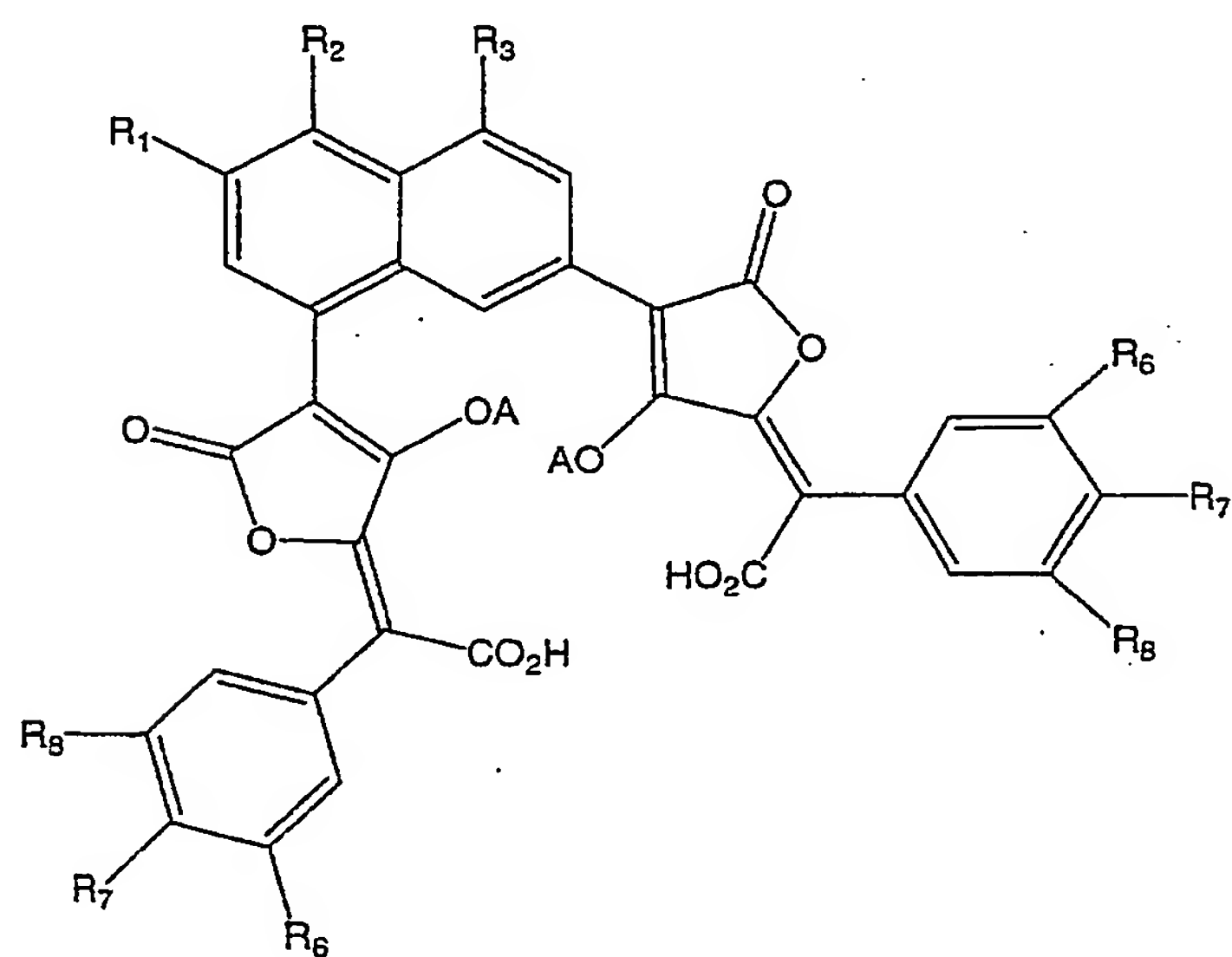
On entend par sels, dans ce qui précède et
25 ce qui suit, les composés ioniques résultant de l'action d'une base minérale sur le ou les protons labiles d'un composé de formule (I).

Ainsi, lorsque R_5 représente H dans le composé selon l'invention, le sel correspondant se
30 présente sous la forme suivante :

5



Lorsque R_4 représente H dans le composé selon l'invention, le sel correspondant se présente sous la forme suivante :



le symbole A pouvant représenter pour les deux formes salines susmentionnées un métal alcalin, tel que Na^+ , K^+ , un cation ammonium NH_4^+ .

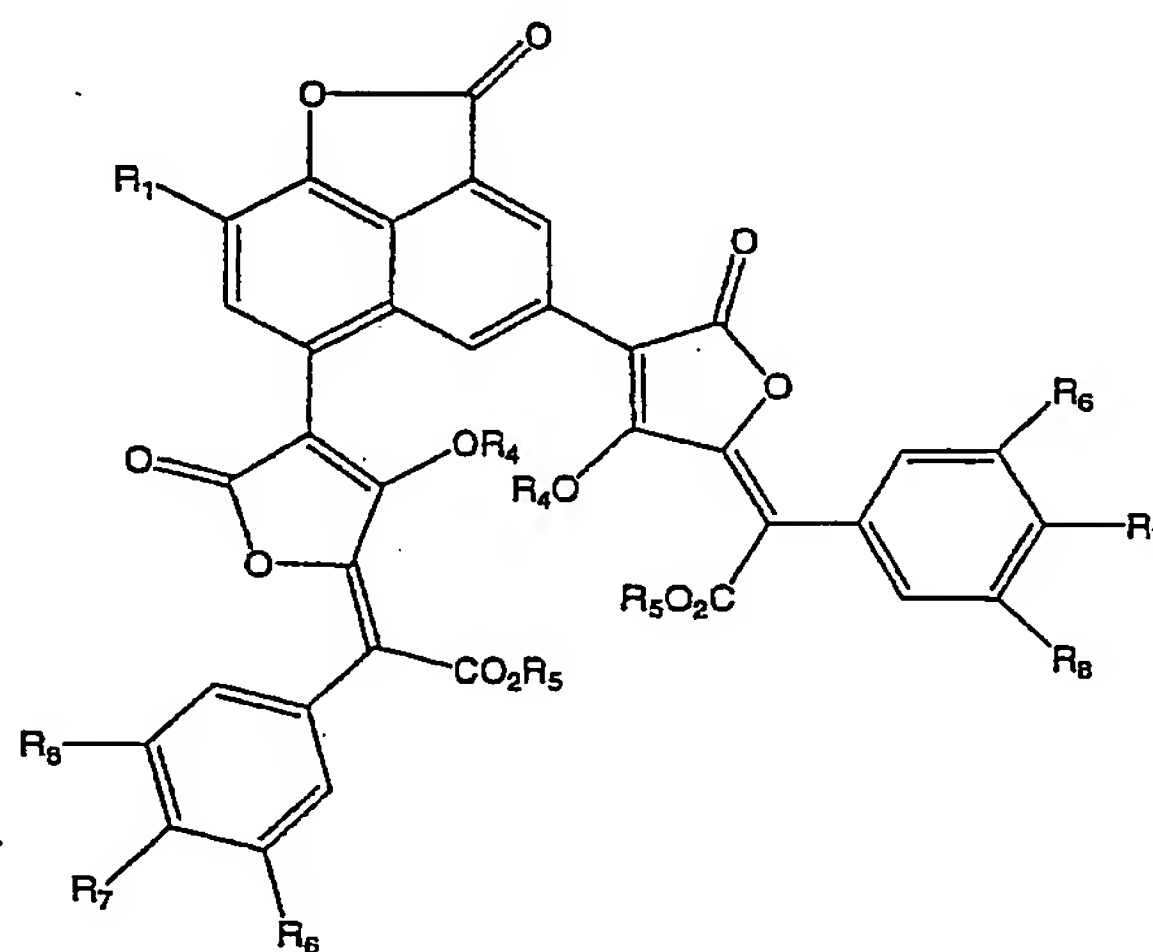
5

On précise que, pour le premier composé exclu, les disels de potassium sont notamment ceux représentés par la formule (XII) ci-après.

On précise que, selon l'invention, dans ce qui précède et ce qui suit, on entend par groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone, un groupe hydrocarboné insaturé tel qu'un groupe méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, tertiobutyle.

15

Dans la formule (I), lorsque R_2 et R_3 forment ensemble un groupement $-\text{O}-\text{CO}-$, le composé répond à la formule (II) suivante :



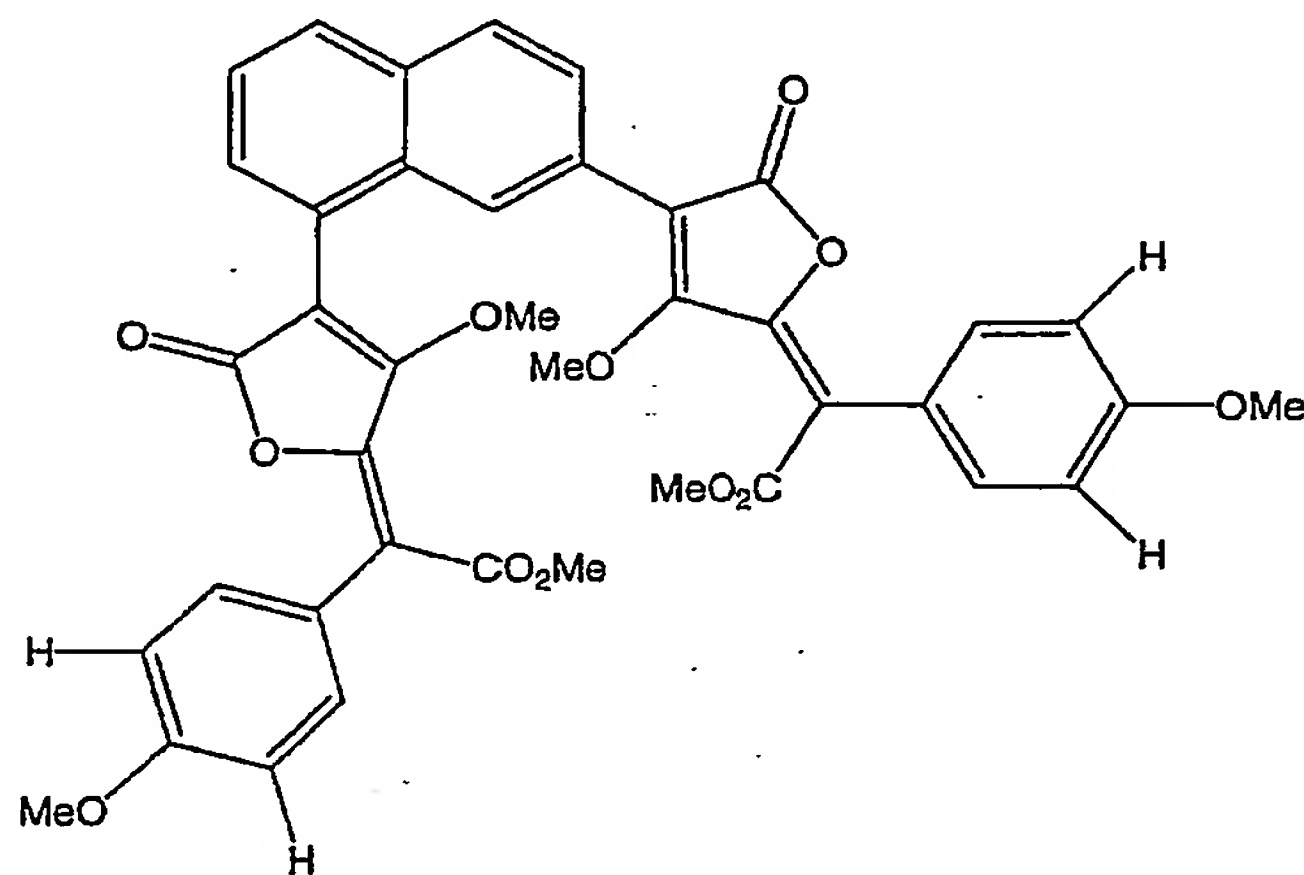
(II)

20

les R_1 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 et R_8 répondant à la même définition que celle donnée précédemment. Ces composés,

notamment de part la présence d'un motif cyclique central avec un cycle lactone se caractérisent par un pouvoir antioxydant particulièrement efficace.

5 Dans la formule (I), les R_2 et R_3 peuvent également former indépendamment des radicaux identiques ou différents, tels que des atomes d'hydrogène. A titre d'exemple, on peut citer le composé de formule (III) suivante :



(III)

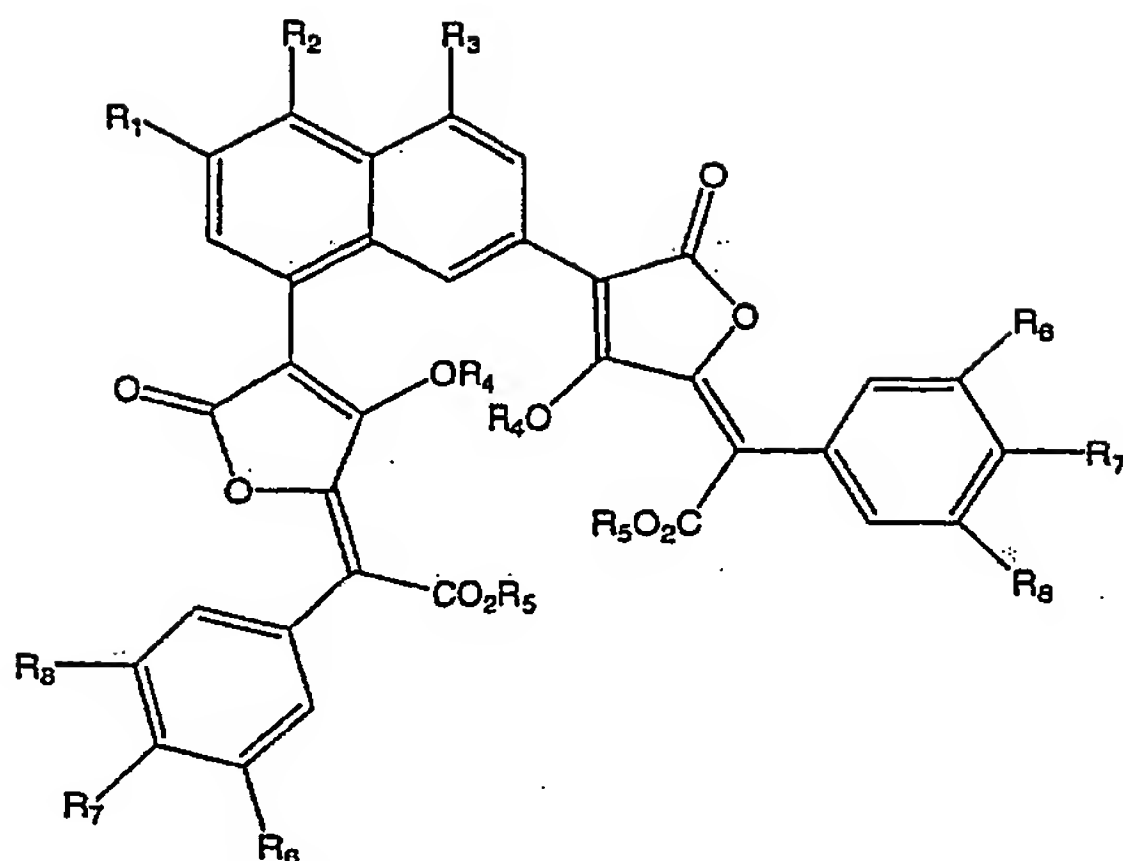
10 dans laquelle les R_1 , R_2 , R_3 , R_6 et R_8 représentent H, les R_4 et R_5 représentent CH_3 (désigné par Me dans la formule ci-dessus), les R_7 représentent $-\text{OCH}_3$ (désigné par -OMe dans la formule ci-dessus).

15 En ce qui concerne le groupe R_9 , représentant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone, on peut citer, à titre d'exemples, le groupe méthyle, éthyle, n-propyle, n-butyle, t-butyle.

20

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation de composés de formule (I) suivante :

8

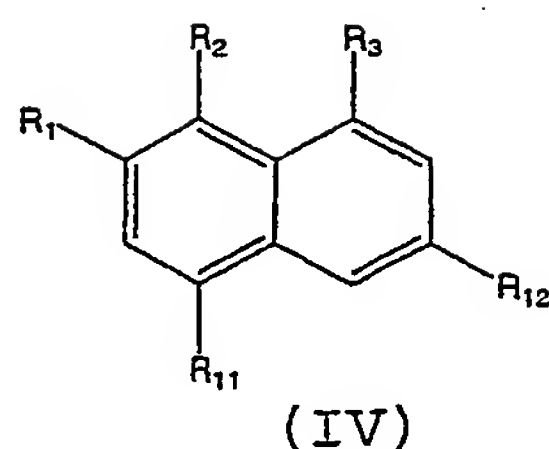


(I)

dans laquelle :

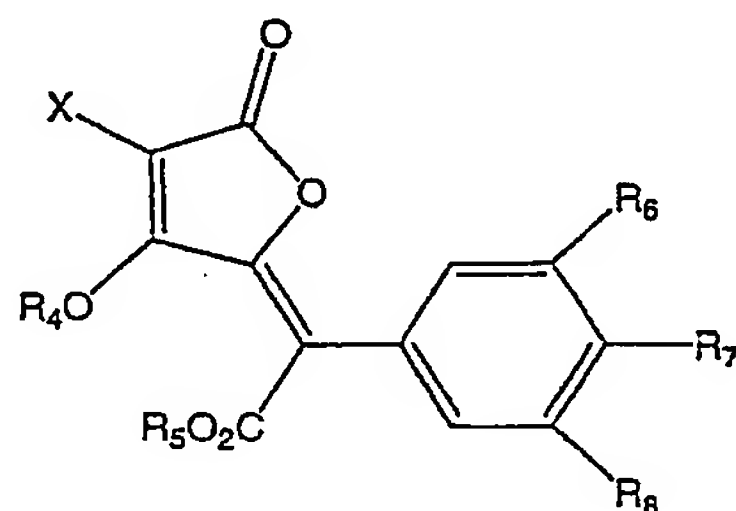
- les R_1 , R_6 , R_7 et R_8 , identiques ou
5 différents, représentent H, -OH ou $-OR_9$;
 - R_2 représente H, -OH ou $-OR_9$; R_3
représente H, R_9 , $-CO_2R_9$ ou $-CO-NHR_{10}$; ou R_2 et R_3
forment ensemble $-O-CO-$;
 - les R_4 et R_5 , identiques ou différents,
10 représentent H ou R_9 ;
 - R_9 représente un groupe alkyle linéaire ou
ramifié, comportant de 1 à 20 atomes de carbone ;
 - R_{10} représente R_9 ou un groupe $-(CH_2)_a-NH-$
 $(CH_2)_b-NH_2$, avec a et b, identiques ou différents,
15 étant des entiers allant de 2 à 4 ;
- et les sels de ces composés,
ledit procédé comprenant successivement :
- une étape consistant à faire réagir un composé de
formule (IV) suivante :

9



dans laquelle :

- les R_1 , R_2 et R_3 ont la même définition que celle
5 donnée précédemment ;
- les R_{11} , R_{12} représentent, indépendamment, $-B(OR_{13})(OR_{14})$
ou $-Sn(R_{15})_3$;
- les R_{13} et R_{14} , identiques ou différents, représentent
H ou un groupe alkyle de 1 à 7 atomes de carbone ou les
10 R_{13} et R_{14} forment ensemble un groupement alkylène linéaire
ou ramifié ;
- R_{15} représente un groupe méthyle ou butyle,
avec un composé de formule (V) suivante :



15

(V)

dans laquelle :

- les R_4 , R_5 , R_6 , R_7 et R_8 répondent à la même définition
que celle donnée précédemment ;
- 20 - X représente un groupe partant,
ladite réaction s'effectuant en présence d'une base et
d'un catalyseur à base de platine ou palladium ; et

-éventuellement une étape de traitement destinée à obtenir un sel correspondant au composé de formule (I). Lorsque R_{13} et R_{14} forment ensemble un groupe alkylène linéaire ou ramifié, ce groupe comprend, par exemple, 5 de 2 à 3 atomes de carbone, tel que les groupes $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-\text{CH}(\text{Ph})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{Ph})-$, Ph représentant un groupement phényle.

De préférence, le groupe partant X est 10 choisi parmi les halogènes tels que F, Cl, Br, I, le triflate $-\text{O}-\text{SO}_2\text{CF}_3$, le groupe de formule $-\text{O}-\text{SO}_2-(\text{CF}_2)_n-\text{CF}_3$ avec n étant un entier allant de 1 à 8.

Selon l'invention, le catalyseur à base de platine ou palladium est choisi de manière à obtenir 15 une réaction de couplage entre le composé de formule (IV) et le composé de formule (V). De préférence, ce catalyseur est un complexe de platine ou palladium, tel que le dichlorobis(triphénylphosphine)palladium $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, le tétrakis(triphénylphosphine)palladium 20 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$.

Selon l'invention, la base utilisée dans le cadre de ce procédé est une base choisie, par exemple, parmi NaOH , $\text{Ba}(\text{OH})_2$, Na_2CO_3 , K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , K_3PO_4 , CH_3COONa , CH_3COOK , CH_3ONa , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{ONa}$, les amines 25 telles que la triéthylamine.

L'éventuelle étape destinée à obtenir les sels correspondants consiste, une fois le composé de formule (I) obtenu, à traiter ce produit, par exemple 30 en faisant réagir sur celui-ci une base minérale. Ainsi, lorsque les R_5 représentent H, un traitement par

une solution d'hydroxyde de potassium permet obtenir le disel de potassium correspondant, qui n'est autre qu'un dicarboxylate de potassium.

On note que le procédé selon l'invention
5 peut comporter éventuellement des étapes de protection des fonctions sensibles aux conditions réactionnelles, ces fonctions étant ensuite déprotégées en fin dudit procédé. Ces étapes de protection et de déprotection sont des étapes à la portée de l'homme du métier.

10

De manière plus détaillée, le procédé de préparation des composés de formule (I) peut se dérouler de la manière suivante.

Dans un premier temps, il est procédé au
15 mélange des réactifs répondant aux formules (IV) et (V) avec un catalyseur adéquat tel que mentionné ci-dessus, dans un solvant aprotique, par exemple du tétrahydrofurane (THF), sous atmosphère de gaz inerte.

Ensuite, après homogénéisation du mélange
20 réactionnel, on introduit une base, par exemple, du bicarbonate de sodium.

Le mélange réactionnel est ensuite porté à reflux sous agitation vigoureuse pendant une durée adéquate (c'est-à-dire la durée nécessaire à
25 l'obtention du composé de formule (I), l'avancement de la réaction pouvant être suivi par des techniques classiques telles que la chromatographie sur couche mince).

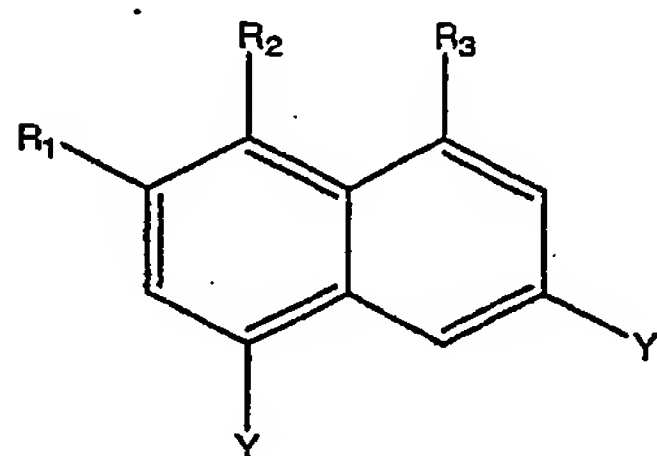
Le mélange réactionnel est alors traité par
30 ajout d'eau. La phase aqueuse est extraite avec un solvant organique, par exemple du dichlorométhane. Les

phases organiques sont réunies, séchées puis concentrées. Le produit obtenu est finalement purifié par des techniques classiques telles que la chromatographie sur colonne.

5

Le procédé de préparation des composés conformes à l'invention met en jeu des composés de formule (IV) et (V), qui peuvent être disponibles commercialement ou préparés avant la mise en œuvre du
10 procédé de l'invention.

Ainsi, le composé de formule (IV), avec R_{11} et R_{12} représentant $-B(OR_{13})(OR_{14})$, peut être obtenu en faisant réagir un composé dérivé du naphthalène de formule (VI) :



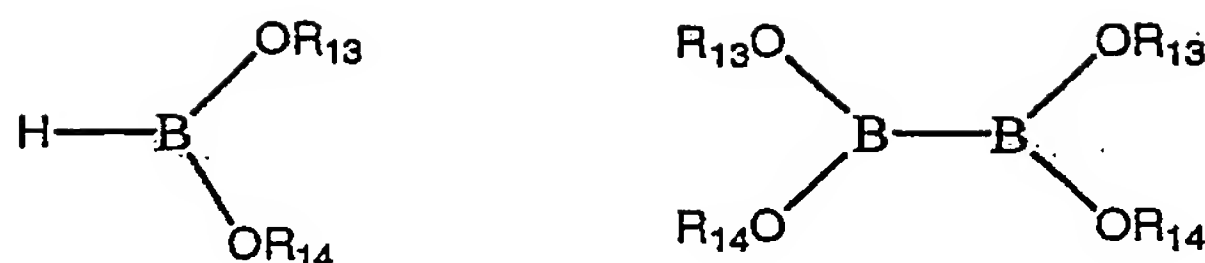
15

(VI)

dans laquelle :

- les R_1 , R_2 et R_3 ont la même définition que celle
20 donnée précédemment ;
- les Y, identiques ou différents, représentent des groupes partants choisis, par exemple, parmi les halogènes tels que le fluor, chlore, brome, iode, le triflate $-O-SO_2-CF_3$,
25 avec un composé boré répondant à l'une des formules suivantes :

13

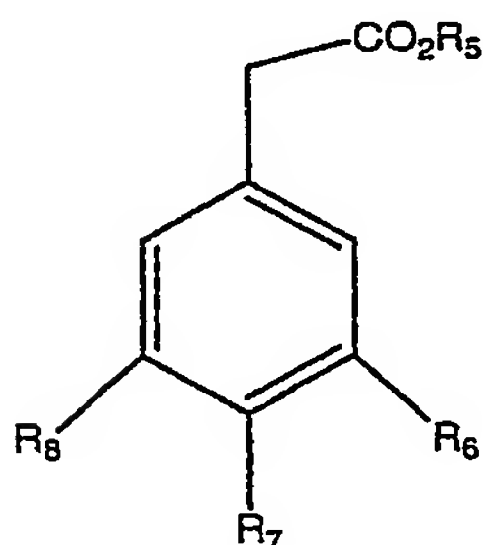


R_{13} et R_{14} ayant la même signification que celle donnée ci-dessus,

5 ladite réaction s'effectuant en présence d'une base et d'un catalyseur à base de platine ou de palladium tel que le 1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène dichloropalladium ou $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, dppf signifiant le 1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène.

10 Le composé de formule (V), quant à lui, peut être obtenu par un procédé comprenant la succession d'étapes suivantes :

a) réaction d'un phénylacétate de formule (VII) suivante :



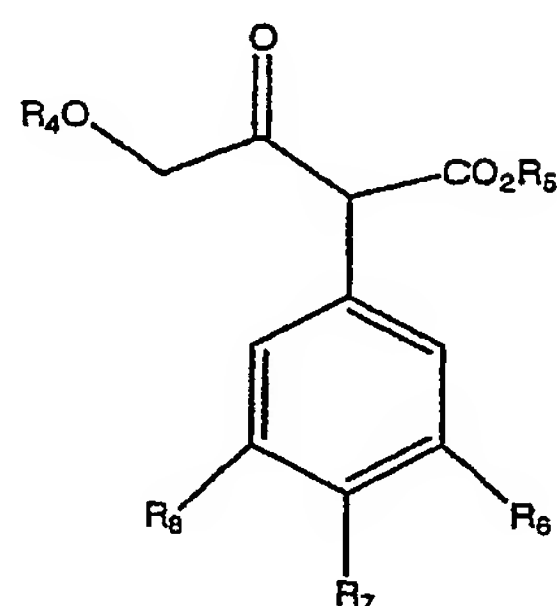
15

(VII)

les R_5 , R_6 , R_7 et R_8 ayant la même définition que celle donnée précédemment, en milieu basique, avec un α -
20 alcoxyacétate d'alkyle de formule $\text{R}_4\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{OAlk}$, R_4 répondant à la même définition que celle donnée précédemment, le groupement Alk étant un groupement alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes

14

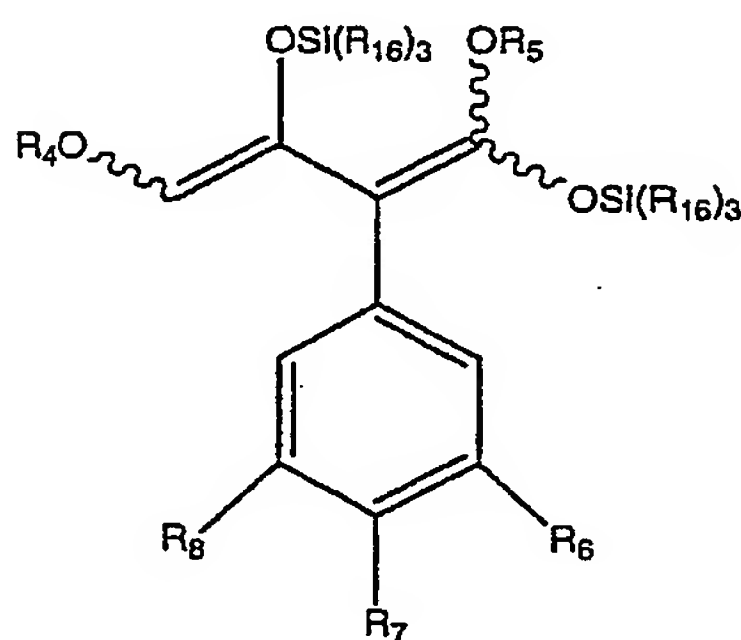
de carbone, à l'issue de laquelle l'on obtient un composé de formule (VIII) suivante :



(VIII)

5

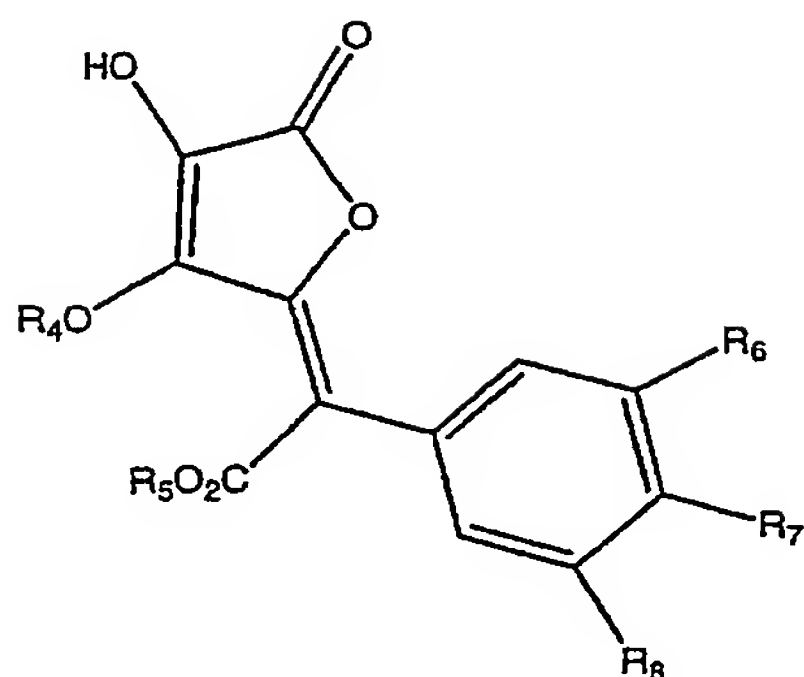
b) réaction du composé (VIII), en milieu basique avec un composé silylé de formule $(R_{16})_3SiHal$, R_{16} étant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 4 atomes de carbone, Hal étant un groupe halogène, tel que F, Cl, Br, I, à l'issue de laquelle l'on obtient un composé disilylé de formule (IX) suivante:



(IX)

15

c) réaction de cyclisation du composé (IX) avec le chlorure d'oxalyde $(ClCO)_2$, à l'issue de laquelle l'on obtient le composé de formule (X) suivante :



(X)

d) réaction du composé (X) avec un réactif apte à
 5 former par réaction avec le -OH du cycle lactone un
 groupe partant X à l'issue de laquelle l'on obtient le
 composé de formule (V).

A titre d'exemples, ce groupe partant X
 peut être choisi parmi les halogènes, le triflate -O-
 10 SO₂-CF₃ ou le groupe de formule -O-SO₂-(CF₂)_n-CF₃ avec n
 étant un entier allant de 1 à 8.

On note que, dans les formules ci-dessus,
 les liaisons symbolisées par :



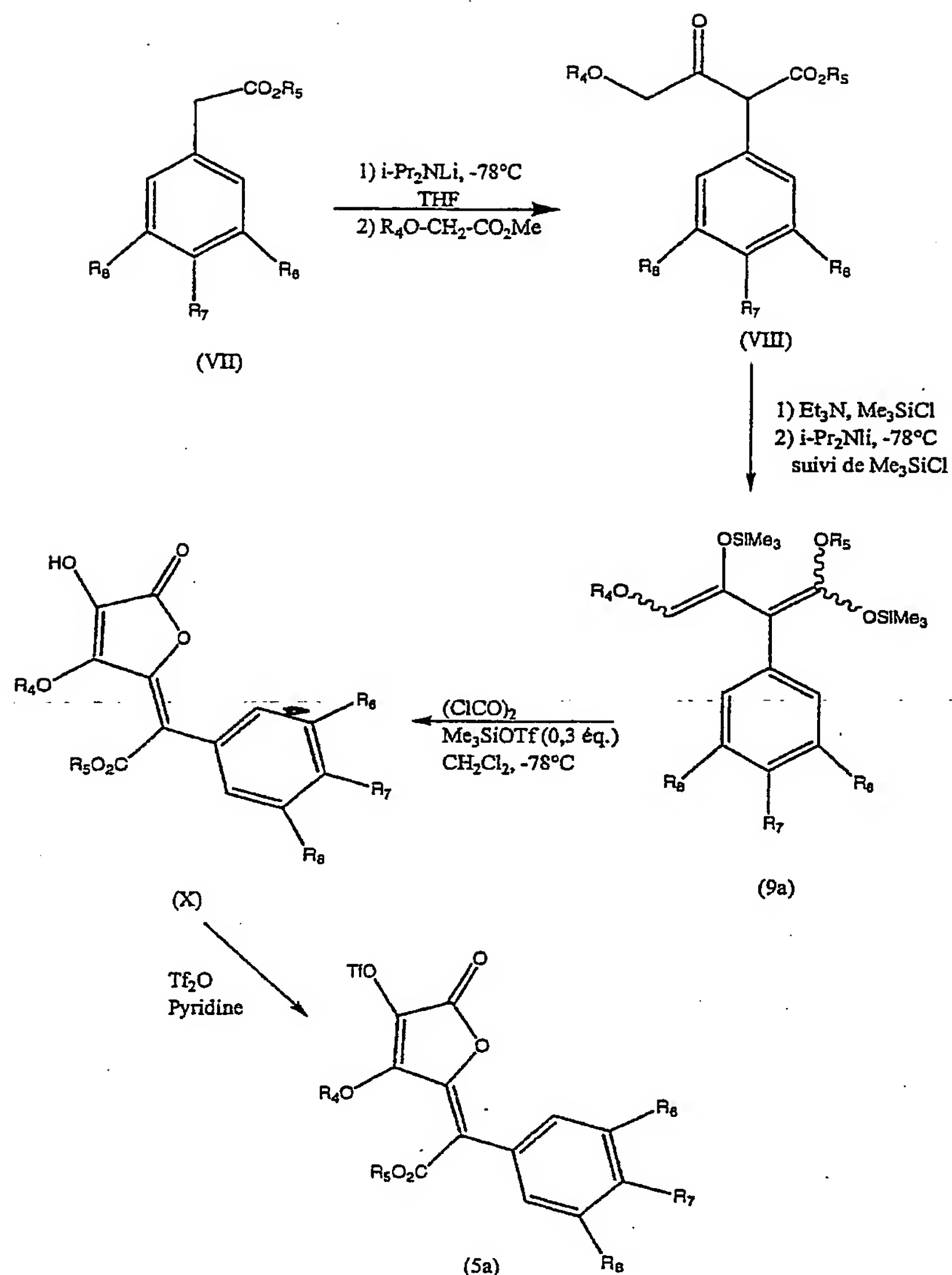
15 signifient que les composés concernés peuvent exister
 sous leurs différentes formes isomères.

Ainsi, dans l'étape a), la réaction
 s'effectue dans un milieu basique, ce milieu étant
 20 destiné à déprotoner le groupement -CH₂- situé en
 position α du groupement -CO₂R₅ du composé (VII). Ce
 milieu basique peut être par exemple une solution de
 diisopropylamidure de lithium (ou LDA). L'espèce

réactive ainsi formée se condense avec l' α -alcoxyacétate d'alkyle pour donner le produit (VIII). Les étapes b) et c), qui consistent à synthétiser un composé 1,3-bis(trialkylsiloxy)-1,3-butadiène (IX),
5 suivi d'une cyclisation sont adaptées des travaux de Langer, tels que ceux explicités dans la publication « Domino Reaction of 1,3-bis(trimethylsilyloxy)-1,3-dienes with Oxalyl Chloride : General and Stereoselective Synthesis of γ -Alkylidenebutenolides »
10 P.Langer et al., Chem.Eur.J.2000, 6, N°7, 3204-3214 [6].

Enfin, l'étape d) peut s'envisager selon tout type de réactions à la portée de l'homme de l'art, lesdites réactions permettant de convertir le
15 groupement -OH en groupement réactif tel qu'un triflate ou un fluoroalkylsulfonate $-\text{SO}_2-(\text{CF}_2)_n-\text{CF}_3$ avec n étant un entier allant de 1 à 8.

A titre d'exemple, lorsque le groupe partant X est un groupe triflate (symbolisé par OTf),
20 le composé référencé 5a faisant partie des composés de formule (V), peut être synthétisé selon le schéma réactionnel particulier suivant :

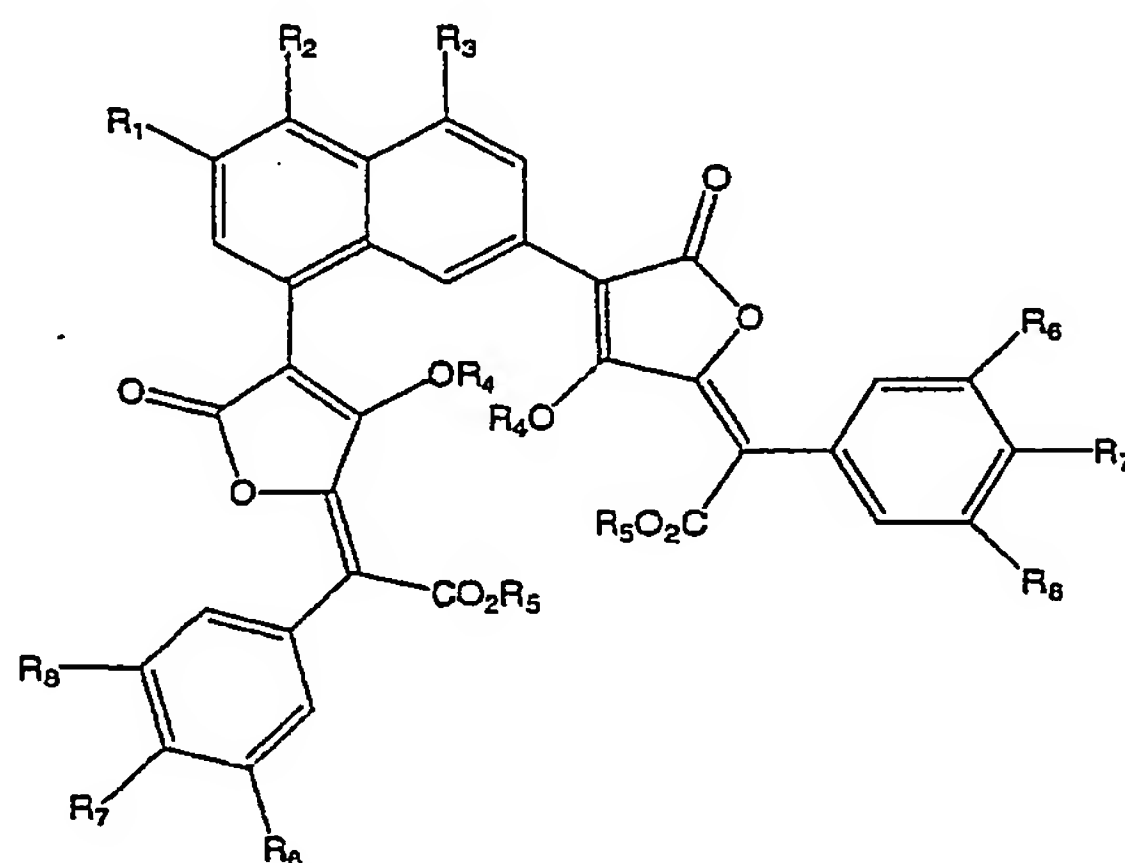


Selon ce schéma de synthèse particulier, le triflate (5a) est préparé à partir de l'alcool correspondant (X) par traitement avec l'anhydride triflique (TiF_2O), en présence d'une base telle que la pyridine. L'alcool (X) provient de la réaction d'un 1,3-bis(triméthylsiloxy)-1,3-butadiène (9a) convenablement substitué avec le chlorure d'oxalyle, catalysée par du triflate de méthyle. Cette réaction de

cyclisation, ainsi que la préparation du 1,3-bis(triméthylsiloxy)-1,3-butadiène (9a) sont adaptés des travaux de Langer, tels que ceux mentionnés ci-dessus. Le β -cétoester (VIII) précurseur du 1,3-bis(triméthylsiloxy)-1,3-butadiène (9a) est obtenu par réaction de l'énolate lithié formé à partir du phénylacétate correspondant (VII) avec un α -alcoxyacétate de méthyle.

10 Les inventeurs ont découvert, de manière surprenante, que les composés (I) tels que définis dans le premier objet, y compris les composés exclus, peuvent être utilisés, de manière efficace, en tant qu'agents antioxydants pour la fabrication de compositions antioxydantes.

15 Ainsi, la présente invention a également pour objet des agents antioxydants de formule (I) suivante :



20

(I)

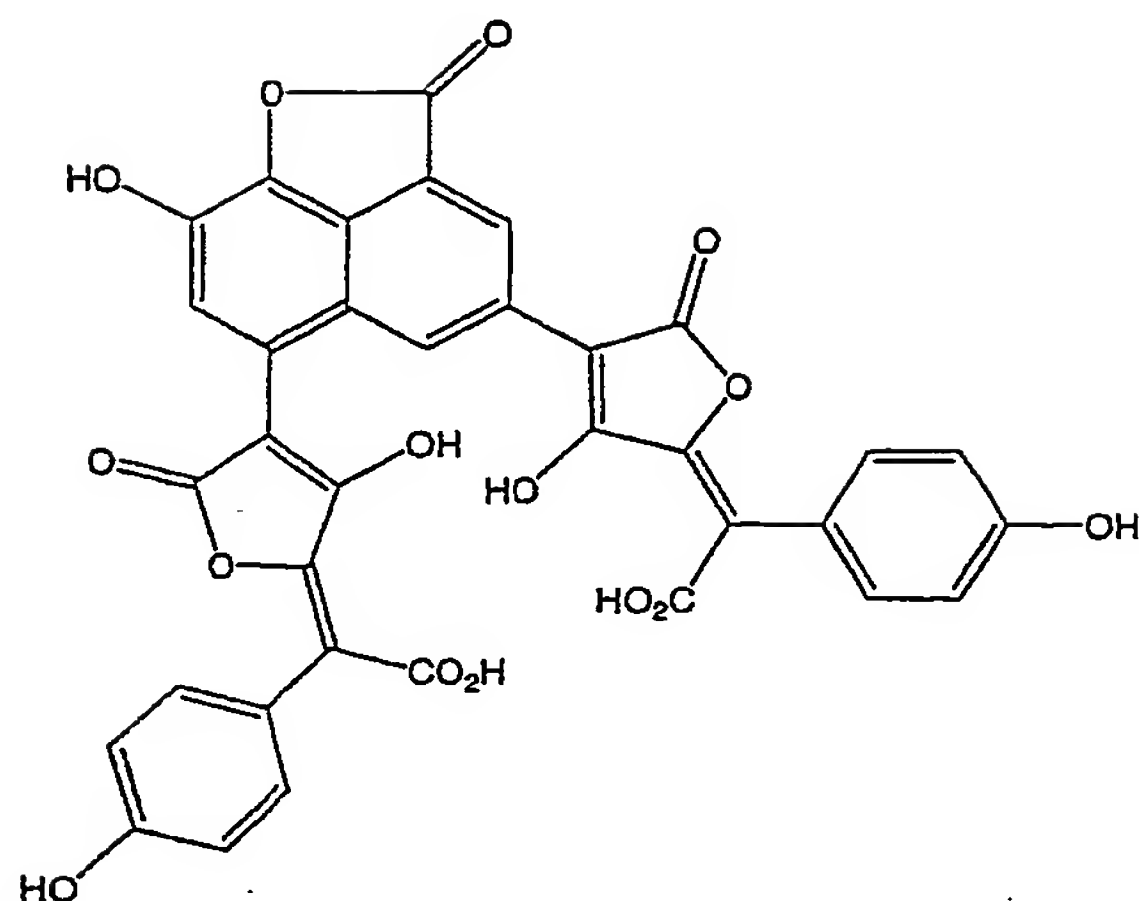
dans laquelle :

- les R_1 , R_6 , R_7 et R_8 , identiques ou différents, représentent H, -OH ou -OR₉ ;
 - R_2 représente H, -OH ou -OR₉ ; R_3 représente H, R_9 , -CO₂R₉ ou -CO-NHR₁₀ ; ou R_2 et R_3 forment ensemble -O-CO- ;
 - les R_4 et R_5 , identiques ou différents, représentent H ou R_9 ;
 - R_9 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 20 atomes de carbone ;
 - R_{10} représente R_9 ou un groupe -(CH₂)_a-NH-(CH₂)_b-NH₂, avec a et b, identiques et différents, étant des entiers allant de 2 à 4 ;
- et les sels de ceux-ci.

15 Lorsque R_2 et R_3 forment ensemble -O-CO-, l'agent antioxydant présente une structure chimique identique à celle du composé de formule (II) définie ci-dessus.

20 Parmi ces agents de formule (II), on peut citer la norbadiolone sous forme diacide, pour laquelle les R_1 et R_7 représentent -OH, R_2 et R_3 forment ensemble -O-CO-, les R_4 , R_5 , R_6 et R_8 représentent H. La norbadiolone sous forme diacide peut être représentée par la formule (XI) suivante :

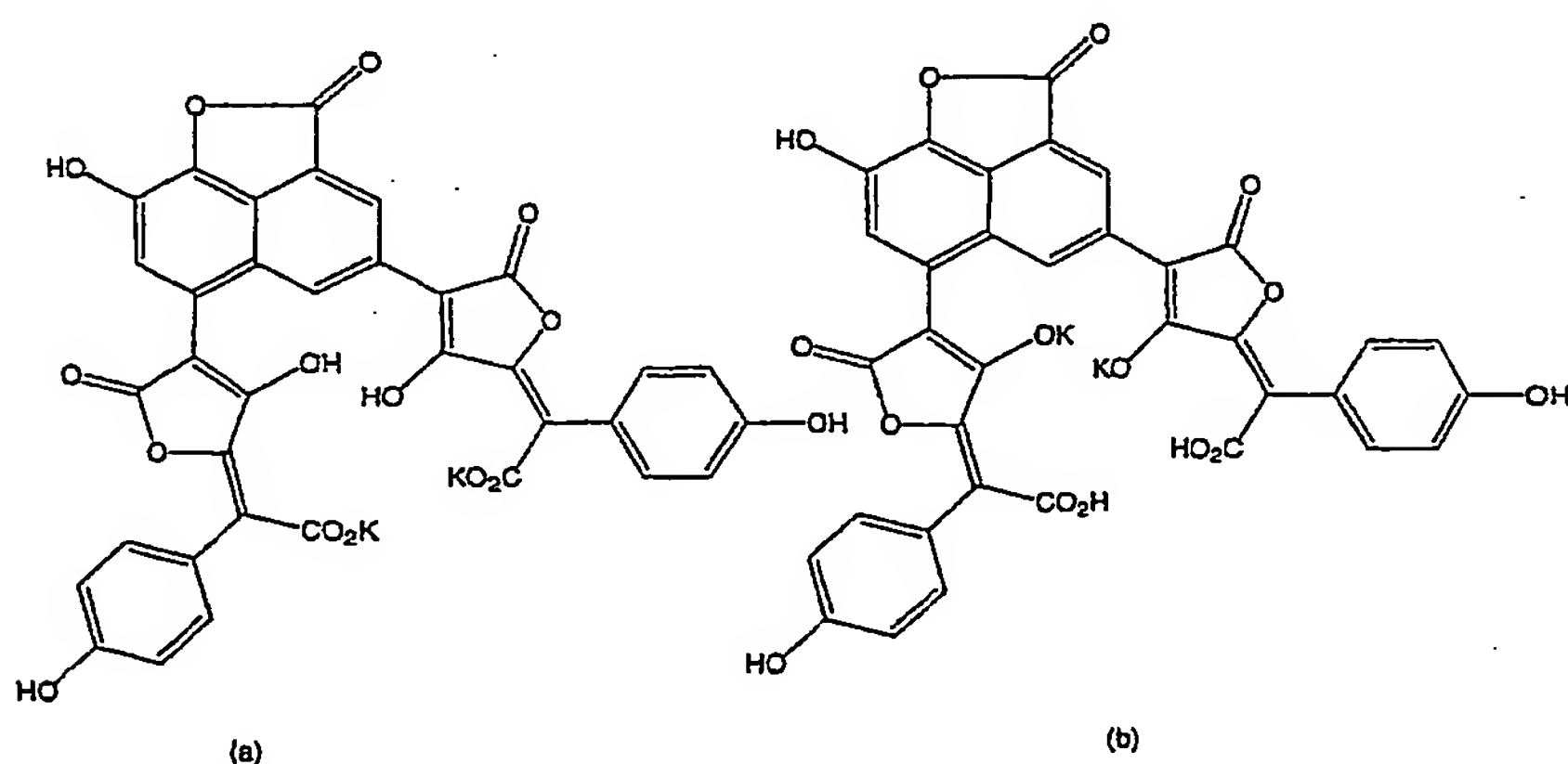
20



(XI)

On peut citer également, parmi les agents
 5 antioxydants selon l'invention, la norbadione sous
 forme de disel potassique, qui peut être ainsi
 représentée par la formule (XII) suivante (pouvant
 présenter deux formes (a) et (b)) :

10



(XII)

La norbadione est un produit naturel, qui a été extrait à ce jour de deux espèces de champignons. Elle constitue l'un des pigments du chapeau du bolet bai (*Xerocomus badius*), qui est une espèce comestible
5 très appréciée, tel que cela est décrit dans l'article « Pigments from the cap cuticle of the Bay Boletus », Angew.Chem.Int.Ed.Engl.23(1984),n°6 [4]. On la trouve également dans le pisolithus des sables (*Pisolithus tinctorius*), comme l'indique l'article intitulé « A
10 naphthalenoid pulvinic acid derivative from the Fungus Pisolithus Tinctorius », Phytochemistry, vol 24, n°6, pp 1351-1354, 1985 [5].

La norbadione est extraite de ces champignons sous forme de sel de potassium (formule
15 XII) et peut être convertie en le diacide correspondant (formule XI) par traitement avec une solution d'acide chlorhydrique.

Les inventeurs ont, de manière surprenante, mis en évidence l'activité antioxydante de la
20 norbadione.

Grâce à leurs propriétés antioxydantes particulièrement efficaces, les agents antioxydants de formule (I) peuvent entrer dans la fabrication de
25 compositions antioxydantes, en particulier de compositions pharmaceutiques, de compositions cosmétiques ou de compositions alimentaires.

Ainsi, l'invention a trait à des compositions pharmaceutiques, comprenant au moins un
30 agent antioxydant selon l'invention tel que défini

précédemment et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

On entend par véhicule pharmaceutiquement acceptable un véhicule, qui peut être administré à un individu en même temps que l'agent antioxydant et qui ne comporte pas d'effet biologique indésirable.

Ces compositions pharmaceutiques peuvent être utilisées pour le traitement des maladies découlant d'un stress oxydant.

10

Ainsi, ces compositions pharmaceutiques comprenant les agents selon l'invention peuvent être utilisées pour le traitement de maladies inflammatoires, en particulier les maladies se traduisant, en réaction à un allergisant, par la production de cytokines.

15

Par exemple, des compositions pharmaceutiques comprenant de la norbadiolone sous forme de diacide (formule XI) ou de diol (formule XII) contribuent, de façon dose-dépendante à diminuer la production de cytokines TNF- α et IL-10 d'un hôte infecté par un allergisant tel qu'un liposaccharide, ce qui montre que les agents antioxydants, selon la présente invention, présentent une activité anti-inflammatoire.

25

Ces compositions pharmaceutiques peuvent être également utilisées pour assurer un effet protecteur de cellules vis-à-vis d'une apoptose consécutive à une accumulation de radicaux libres au sein desdites cellules.

30

Ainsi, ces compositions peuvent être utilisées pour traiter, de manière préventive ou curative, des cellules ou un organismes vivant exposé(s) à un rayonnement ionisant induisant la production de radicaux libres.

De ce fait, ces compositions sont aptes à contrer les effets d'un rayonnement ionisant (par exemple, celui émanant d'une zone contaminée par des substances radioactives) ou d'un rayonnement ultra-violet envers des cellules soumises audit rayonnement, du fait que les agents antioxydants selon la présente invention incorporés dans ces compositions captent les radicaux formés par action dudit rayonnement sur ces cellules or organismes vivants.

Ces compositions peuvent également être utilisées pour inhiber les effets secondaires d'un médicament induisant la production de radicaux libres. De ce fait, ces compositions peuvent atténuer la cytotoxicité de médicaments, engendrant par leurs effets secondaires, un stress oxydant, tel que cela est le cas du cisplatine.

En d'autres termes, l'invention a trait à l'utilisation d'un agent antioxydant tel que défini précédemment pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée au traitement de maladies inflammatoires.

L'invention a trait à l'utilisation d'un agent antioxydant tel que défini précédemment pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée au traitement d'un organisme vivant exposé à un rayonnement ionisant.

L'invention a enfin trait à l'utilisation d'un agent antioxydant tel que défini précédemment pour la fabrication d'un médicament destiné à inhiber les effets secondaires d'un médicament induisant la
5 production de radicaux libres.

On précise que, selon l'invention, on entend par traitement, un traitement pouvant être préventif mais également curatif.

De plus amples détails concernant
10 l'activité de ces compositions incorporant des agents antioxydants selon l'invention tels que mentionnés ci-dessus seront explicités dans la partie détaillée de la description.

15 La présente invention a également pour objet des compositions cosmétiques incorporant au moins un agent antioxydant selon l'invention.

Ces compositions cosmétiques peuvent se présenter sous différentes formes, telles que des
20 crèmes, huiles, destinées à un usage topique cutané, le rôle des agents antioxydants étant de piéger les radicaux libres au niveau de la surface cutanée sur laquelle est appliquée la composition cosmétique. Les compositions selon l'invention contribuent ainsi à
25 ralentir le processus de vieillissement cutané, engendré notamment par l'accumulation de radicaux libres.

Enfin, la présente invention a pour objet
30 des compositions alimentaires, comprenant au moins un agent antioxydant selon l'invention. Les agents

antioxydants selon la présente invention peuvent être utilisés, en particulier, en tant qu'additifs dans des compositions alimentaires pouvant produire, lors de leur vieillissement des radicaux libres, tels que les huiles, le beurre.

Des agents antioxydants particulièrement efficaces pouvant entrer dans les compositions pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, correspondent aux agents de formule (XI) ou (XII), tel que définis ci-dessus.

D'autres avantages et caractéristiques de la présente invention apparaîtront encore à la lecture de la description qui suit, donnée à titre illustratif et non limitatif en référence aux dessins annexés.

Brève description des dessins.

- les figures 1, 2 et 3 sont des graphiques illustrant l'activité antioxydante de la norbadione sous forme de disel potassique par rapport à des antioxydants classiques, ladite activité antioxydante étant mise en évidence par suivi de la dégradation de la thymidine soumise à un stress oxydant de nature radiative (rayons γ émis par le ^{137}Cs sur la figure 1 ou rayons UV sur la figure 2) ou de nature chimique (figure 3) ;
- les figures 4 et 5 sont des graphiques illustrant l'effet anti-inflammatoire de la norbadione sous forme de diacide (figures 4) ou de disel potassique (figures 5) par mesure de la production de certaines

- cytokines par des cellules soumises à un allergisant ;
- la figure 6 est un graphique illustrant l'activité protectrice de la norbadiolone sous forme de diacide ou de diol potassique vis-à-vis de cellules soumises à un rayonnement ionisant ;
 - la figure 7 est un graphique illustrant l'activité protectrice de la norbadiolone sous forme de diacide ou de diol potassique vis-à-vis de cellules soumises à l'action du cisplatine ;
 - la figure 8 est un graphique qui représente la contraction vasculaire d'anneaux d'aorte de rat C(g) (g signifiant gramme) en fonction de la concentration en pyrogallol [Pyr] (μM), en l'absence de norbadiolone et en présence de norbadiolone 100 μM ;
 - la figure 9 est un graphique représentant le taux de relaxation vasculaire d'anneaux d'aorte de rat R(%) en fonction de la concentration en Sin-1 [Sin-1] (μM) en l'absence de norbadiolone et en présence de norbadiolone 100 μM .

EXPOSE DETAILLE DE L'INVENTION

Les exemples 1 à 5 illustrent les propriétés antioxydantes de la norbadiolone sous forme de diacide ou de diol.

L'exemple 6 illustre un exemple de synthèse totale d'un composé de formule (III) présentant également une activité antioxydante.

Exemple 1. Evaluation de l'activité antioxydante de la norbadione.

L'évaluation de l'activité antioxydante du
5 disel potassique de la norbadione a été effectuée par
un test de criblage *in vitro*.

Ce test est basé sur le suivi de la
dégradation de la thymidine soumise à différents stress
oxydants en présence de différents agents antioxydants,
10 qui sont la norbadione sous forme de disel potassique
(intitulée Nor-B sur les figures 1 à 3) conforme à
l'invention, et les agents antioxydants suivants :
quercétine (1), fisétine (2), myricétine (3), catéchine
(4), 7-hydroxy-4-méthyl-8-nitrocoumarine (5), Trolox
15 (6) sur les figures 1 à 3.

En présence d'un antioxydant, la thymidine
est protégée de manière plus ou moins efficace selon la
nature dudit antioxydant. L'efficacité de l'antioxydant
est quantifiée en dosant la thymidine restante
20 (quantifiée en % en ordonnée du graphique) à l'aide
d'un dosage immunoenzymatique, du type ELISA dit « par
compétition ». Ce dosage ELISA consiste à réaliser une
compétition de liaison à un anticorps monoclonal
spécifique de la thymidine fixé sur une phase solide,
25 entre la thymidine restante à la fin du test et la
thymidine marquée par une enzyme (l'acétylcholine
estérase). Après lavage, l'enzyme fixée est quantifiée
par détection colorimétrique à l'aide du diacide 5,5'-
dithio-bis(2-nitrobenzoïque) (dit réactif d'Ellman) et
30 en présence d'acétylcholine.

Trois séries de tests ont été mises en œuvre :

- une première série consistant à doser la thymidine restante suite à une irradiation gamma (pendant 3H30) induite par du césium 137, ladite thymidine étant présente en début de test à une concentration de 15 μM avec une concentration d'antioxydant de 12 μM (figure 1);
- une deuxième série consistant à doser la thymidine restante suite à une irradiation ultraviolette à 254 nm ($1,75\text{J}/\text{cm}^2$) en présence de H_2O_2 5mM, ladite thymidine étant présente en début de test à une concentration de 70 μM avec une concentration d'antioxydant de 100 μM (figure 2) ;
- une troisième série consistant à doser la thymidine restante soumise à un stress chimique oxydant (réactif de Fenton $\text{FeSO}_4/\text{EDTA}$ 0,35mM en présence de H_2O_2 35mM), ladite thymidine étant présente en début de test à une concentration de 70 μM avec une concentration d'antioxydant de 20 μM (figure 3).

Les résultats de ces tests sont regroupés respectivement, pour la première série sur la figure 1, pour la deuxième série sur la figure 2, pour la troisième série sur la figure 3.

Les figures 1 à 3 montrent explicitement que la norbadiolone présente le meilleur pouvoir antioxydant (ce dernier étant quantifié par la mesure du pourcentage de thymidine restante après action du stress oxydant, % représenté en ordonnée des graphiques des figures 1 à 3) par comparaison, par exemple, avec la quercétine (1) issue du thé ou du vin réputée pour

sa propriété antioxydante puissante et par comparaisons avec les autres agents antioxydants classiques (2), (3), (4), (5) et (6).

5 EXEMPLE 2. Evaluation du pouvoir anti-inflammatoire de la norbadiione.

Dans cet exemple, on démontre l'effet biologique antiinflammatoire induit par l'activité
10 antioxydante de la norbadiione sous forme de diacide ou de disel potassique, en détectant des cytokines produites par des cellules de type monocytes lors d'un traitement par un liposaccharide allergisant. Ce liposaccharide est une endotoxine située sur la
15 membrane externe des bactéries Gram-négatives. En particulier, il stimule la production de cytokines pro-inflammatoires par les cellules mononucléaires (monocytes, macrophages) de l'hôte infecté.

Si en présence du produit à tester, une
20 modification de la production des cytokines est mise en évidence, on en déduit que le produit présente un activité anti-inflammatoire.

Ce test est effectué de la façon suivante.
25 Des cellules sanguines humaines de donneurs sains (dites PBMC pour 'peripheral blood mononuclear cells') sont incubées avec la norbadiione sous forme diacide ou de disel potassique à des concentrations croissantes (de 10^{-8} M à 10^{-5} M) avec ou activation simultanée par
30 le lipopolysaccharide de *Salmonella abortus equi* à la concentration de $5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, dans des plaques de culture

de 24 puits, pendant 24 heures à 37°C, dans une atmosphère humidifiée de 5% en CO₂ et 95% en air. Après incubation, le surnageant est enlevé et stocké à -20°C jusqu'à réalisation du test.

5 Plus précisément, la détection des cytokines présentes dans les échantillons est mesurée à l'aide d'un dosage ELISA cytométrique de type « sandwich ». Des microparticules (billes) de polystyrène (de 6 types différents, chacune étant
10 marquées par une quantité différente de colorant fluorescent dont la longueur d'onde d'émission FL-3 est d'environ 650 nm) sont couplées à un anticorps spécifique de l'une des 2 cytokines TNF α , IL-2, IL-10. On obtient ainsi des anticorps de type Ac-PS. Lors
15 de l'incubation, les cytokines présentes dans l'échantillon se lient aux anticorps Ac-PS. Les cytokines capturées sont détectées à l'aide d'un test immunologique mené directement, qui utilise 2 anticorps spécifiques de chaque cytokine couplés à de la
20 phycoérythrine qui émet à une longueur d'onde FL-2 d'environ 585 nm (Ac-PE). Après lavage de l'excès de Ac-PE, la présence des cytokines est mesurée par cytométrie en flux.

On mesure la fluorescence selon les 6
25 intensités de fluorescence FL-3 et selon la longueur d'onde FL-2. L'intensité de la fluorescence FL-3 permet de déterminer la quantité de chaque cytokine présente dans l'échantillon (par comparaison avec des courbes standards).

30 De plus amples informations concernant cette technique sont disponibles dans l'article de Cook

et al, Journal of Immunological Methods, 2001, 254, pages 109-118 [7]

Les résultats de ces tests sont regroupés sur les figures 4 à 5 qui représentent le pourcentage de réponse noté % (c'est-à-dire la quantité de cytokine observée par rapport à la quantité observée lors d'un contrôle où le produit n'a pas été ajouté) en fonction de la concentration (en nM) de norbadiolone sous forme de diacide ou de diol potassique, noté [Nor-A] ou [Nor-B] sur lesdites figures.

En présence de norbadiolone sous forme de diacide (Nor-A) (figure 4), ou de norbadiolone sous forme de diol potassique, (Nor-B) (figure 5), les tests ont mis en évidence une réduction significative dose-dépendante de la production de cytokines TNF- α et IL-10, ce qui prouve l'effet anti-inflammatoire de la norbadiolone.

EXEMPLE 3. Evaluation de l'activité de protection par la norbadiolone de cellules soumises à un rayonnement ionisant.

Ce test consiste à mesurer, en présence ou en l'absence de la norbadiolone sous forme de diacide ou de diol potassique, le taux de survie de cellules traitées par un rayonnement ionisant, à l'aide d'indicateurs sélectifs de certains organites cellulaires tels que les mitochondries.

Des échantillons de norbadiolone sous forme diacide ou de diol potassique sont ajoutés à des

cultures de cellules RDM4 (lymphomes de souris AKR) à des concentrations croissantes (de 0,12 à 20 µg/mL), deux heures avant l'irradiation. Celle-ci est réalisée par exposition de plaques microtests contenant les
5 cellules à des rayons X de 15 MV, à 8 Gy, le milieu de culture étant inchangé.

Le nombre de cellules vivantes est déterminé au sixième jour au moyen du test Uptibblue (qui consiste à mesurer l'activité mitochondriale des
10 cellules). Le réactif Uptibblue (réazurine, encore commercialisé sous la marque ALAMAR BLUE) est un indicateur coloré d'oxydoréduction. La réazurine (bleue et non fluorescente) est réduite en résorufine (rose et fluorescente) par les cellules vivantes.

15 Expérimentalement, l'Uptibblue (dilué au 1/4 dans le milieu de culture) est ajouté aux cellules à raison de 20 µL par puits de 200 µL. Après une incubation de 4 heures à 37°C, on mesure la fluorescence à une longueur d'onde de 590 nm, après
20 excitation à une longueur d'onde de 530 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques en fluorescence (Fluorolite 1000, Dynex). L'intensité de fluorescence est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Elle est exprimée en « unité arbitraire de
25 fluorescence ». Cette valeur dépend du réglage de l'appareil (notamment de la tension) et du bruit de fond (du à la fluorescence émise par des puits ne contenant pas de cellules, mais contenant de l'Utpibblue). Cette dernière valeur est soustraite des
30 valeurs expérimentales.

Les résultats de ce test sont regroupés sur la figure 6, qui représente la fluorescence observée permettant de quantifier le nombre de cellules vivantes, ladite fluorescence étant exprimée en unités arbitraires de fluorescence en ordonnée du graphique (U.A.F) en fonction de la concentration en norbadiolone sous forme de diacide ou de diester potassique, notée [Nor-A] ou [Nor-B] (en $\mu\text{g/mL}$). Sur cette figure, on constate une forte augmentation du nombre de cellules vivantes en fonction de la concentration de la norbadiolone.

Cependant, à partir d'une concentration en norbadiolone de 20 $\mu\text{g/mL}$, cette valeur diminue fortement.

On en déduit ainsi, que la norbadiolone, sous sa forme de diester ou de diacide, protège les cellules contre les rayonnements ionisants, de manière significative et dose-dépendante.

On peut noter que, sans irradiation, la norbadiolone est sans effet sur la croissance et la viabilité des cellules RDM4, même à 20 $\mu\text{g/mL}$.

EXEMPLE 4. Evaluation de l'activité de protection par la norbadiolone de cellules soumises à l'action du cisplatine.

25

Ce test consiste à mesurer, en présence de norbadiolone sous forme de diacide ou de diester potassique, le taux de survie de cellules traitées par le cisplatine.

30

Des cellules K₁ de carcinomes thyroïdiens humains sont cultivées dans des plaques microtest de 96

puits à font plat en présence d'une concentration unique (20 $\mu\text{g/mL}$) de norbadiolone sous forme de diacide ou de disel potassique. Après deux heures, un agent génotoxique, le cisplatine, est ajouté au milieu de culture à des concentrations croissantes (de 12 à 100 μM). Deux jours plus tard, le nombre de cellules est déterminé au moyen du test à la sulforhodamine B (dite SRB), qui mesure la quantité de protéines cellulaires.

La sulforhodamine B (dite SRB) est un colorant anionique se fixant de façon électrostatique aux protéines cellulaires. Ce test est fréquemment utilisé pour l'évaluation des activités cytotoxiques et cytostatiques de nouvelles drogues antitumorales.

De plus amples informations concernant cette technique sont disponibles dans l'article de Papazisis et col « Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay », J.Immunol.Meth, 208, pages 151-158, 1997 [8].

Les résultats de ce test sont regroupés sur la figure 7, qui représente la fluorescence observée près addition de SRB (exprimée en unités arbitraires de fluorescence) en fonction de la concentration en cisplatine (en μM).

D'après cette figure, l'on peut constater que la cytotoxicité du cisplatine est très nettement atténuée par la présence de norbadiolone sous forme de disel(courbe a) ou de diacide (courbe b), par rapport au cas où la cytotoxicité du cisplatine est évaluée en l'absence de norbadiolone (courbes c et d).

Cette activité de protection des cellules vis-à-vis du cisplatine découle de l'activité antioxydante de la norbadiione.

5 EXEMPLE 5 - Effets de la norbadiione sur les anneaux d'aorte de rat.

Cet exemple a pour objectif de montrer l'activité antioxydante de la norbadiione sous forme de
10 disel potassique sur les anneaux d'aorte de rat.

Ces séries de tests mettent en évidence l'activité antioxydante de la norbadiione sur les
anneaux d'aorte de rat.

15

Au cours d'une première série de tests, on soumet, dans un premier temps, des anneaux d'aorte de rat, au pyrogallol, générateur de radicaux superoxydes, ces radicaux induisant une contraction des anneaux
20 d'aorte de rat et on mesure, en l'absence de norbadiione le taux de contraction de ces anneaux.

Dans un deuxième temps, on réitère les mêmes opérations, dans les mêmes conditions que celles mentionnées ci-dessus, cette fois en présence de
25 norbadiione.

Les résultats sont regroupés sur la figure 8, qui représente le taux de contraction vasculaire des anneaux C(g) en fonction de la concentration en pyrrogallol [Pyr] (μM), en l'absence de norbadiione
30 (courbe a) et en présence de norbadiione à la concentration de 100 μM (courbe b).

L'on constate que la courbe (a) est située au-dessus de la courbe (b), ce qui signifie que la contraction des anneaux d'aorte provoquée par le pyrogallol est supprimée en présence de norbadione, du fait que la norbadione capte les espèces oxygénées réactives radicalaires engendrées par le pyrogallol.

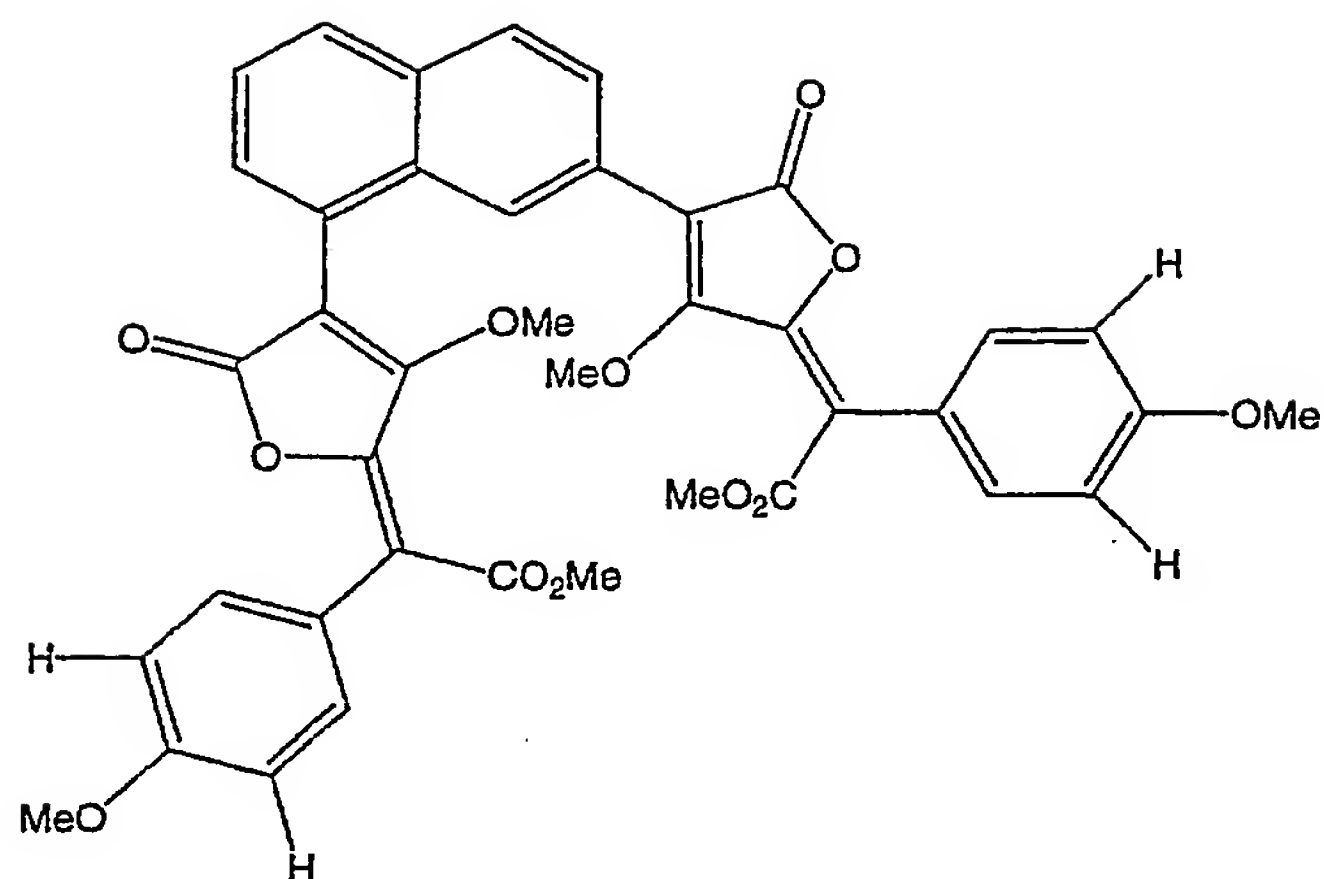
Au cours d'une deuxième série de tests, on soumet des anneaux d'aorte de rat, au SYN-1 (3-morpholino-sydnnonimime), générateur de radicaux NO, induisant une relaxation des anneaux d'aorte de rat et on mesure le taux de relaxation de ces anneaux. En présence de norbadione, on mesure, dans les mêmes conditions que celles mentionnées ci-dessus, le taux de relaxation des anneaux. Les résultats sont reportés sur la figure 9, qui représente le taux de relaxation vasculaire des anneaux R(%) en fonction de la concentration en Sin-1 [Sin-1] (μM) en l'absence de norbadione (courbe a) et en présence de norbadione 100 μM (courbe b).

L'on constate que la courbe (a) est située en-dessous de la courbe (b), ce qui signifie que la relaxation des anneaux d'aorte provoquée par le SYN-1 est amoindrie en présence de norbadione, du fait que la norbadione capte partiellement les radicaux NO.

EXEMPLE 6-Préparation du composé de formule (III)

Cet exemple présente un exemple de préparation d'un composé de formule (III) :

37

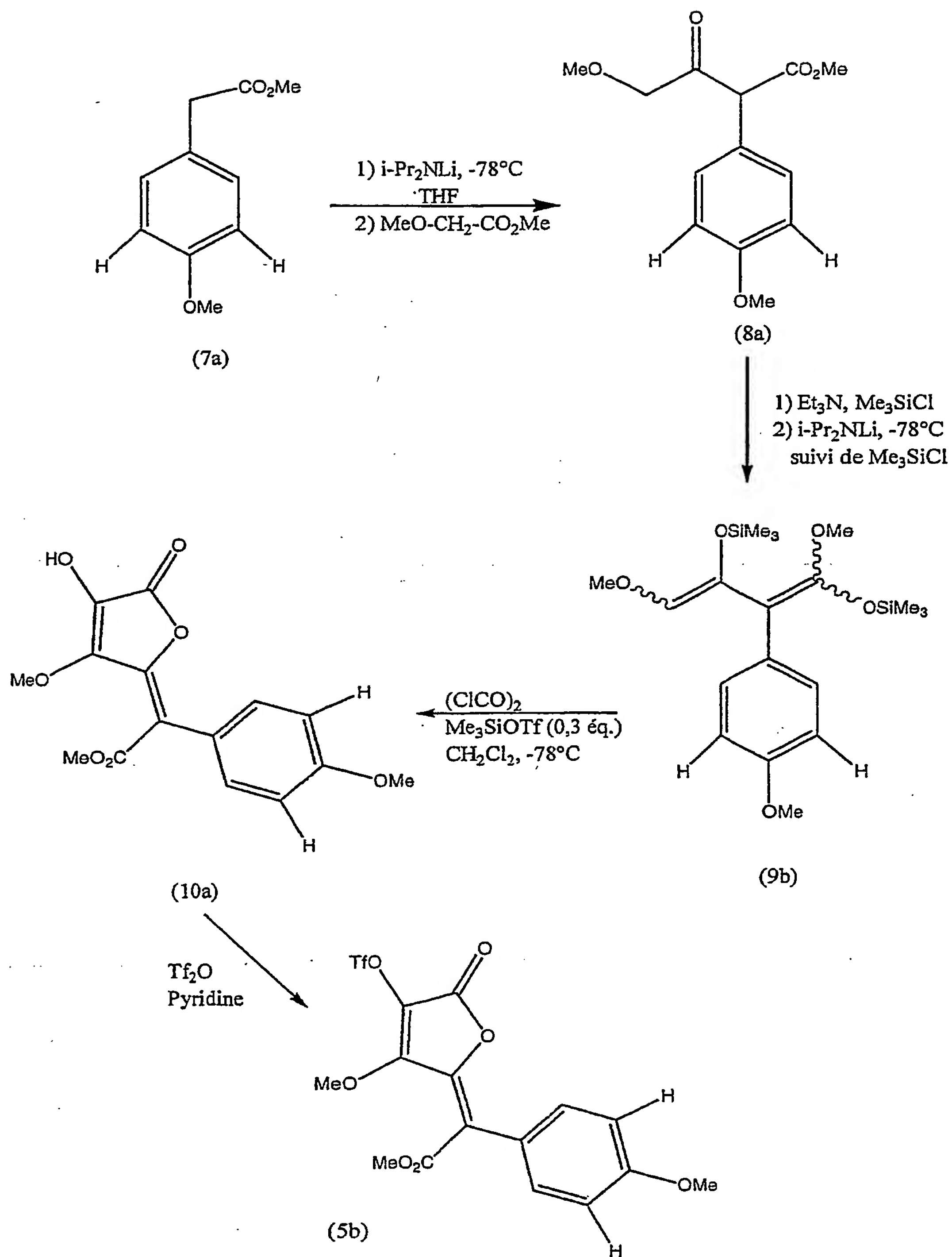


(III)

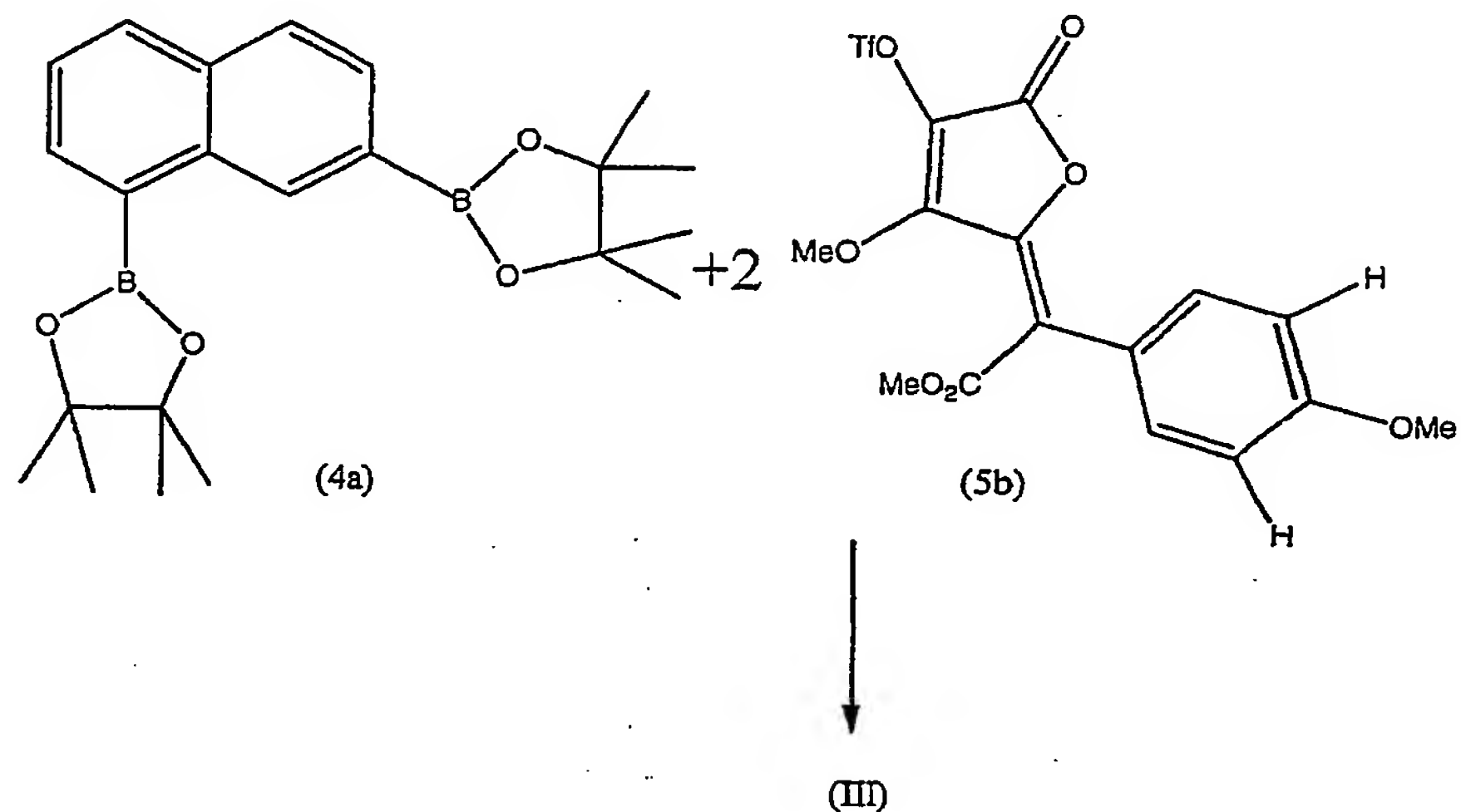
Ce composé est conforme à la définition générale des composés de formule (I), avec les R_1 , R_2 , R_3 , R_6 et R_8 représentent H, les R_4 et R_5 représentent -
5 CH_3 , les R_7 représentent $-OCH_3$.

La synthèse de ce composé correspond au schéma réactionnel suivant :

38



suivi d'un couplage dit « de Suzuki » pour former la molécule de formule (III), le couplage étant précédé de la synthèse du composé (4a) :



- 5 On précise que les déplacements chimiques pour les résultats de RMN ^1H et de RMN ^{13}C sont symbolisés par δ et sont exprimés en ppm.

a) Préparation du composé (8a).

10

Dans un bicol de 100 mL, le 4-méthoxyphénylacétate de méthyle (7a) (4,7 mL ; 29,6 mmol ; 2éq) est dissous dans le THF (15 mL) et le mélange est refroidi vers -70°C . Une solution de diisopropylamidure de lithium 2M dans l'heptane (15 mL ; 30 mmol ; 2éq) est ajoutée goutte à goutte à la seringue et le mélange est maintenu 1 heure vers -70°C . Le méthoxyacétate de méthyle (1,5 mL ; 15 mmol ; 1 éq) est additionné à la seringue et on laisse réagir 5 heures en revenant lentement à température ambiante. Après hydrolyse par une solution saturée de chlorure

15

20

d'ammonium, la phase aqueuse est extraite 3 fois au dichlorométhane, séchée sur MgSO_4 et filtrée. Après évaporation, on obtient une huile orange que l'on chromatographie sur colonne de silice (éluant : pentane/acétate d'éthyle : 8/2). On isole ainsi 2,93 g de produit. Aspect : solide jaune, T_{fusion} : 44°C , Rendement : 77%.

RMN ^1H (CDCl_3) : δ = 3,37 (s, 3H, OMe) ; 3,75 (s, 3H, OMe) ; 3,81 (s, 3H, CO_2Me) ; 4,06 et 4,10 (AB, $J_{\text{AB}}=17,1$ Hz, 2H, CH_2) ; 4,90 (s, 1H, CH) ; 6,91 (d, $J=8,5$ Hz, 2H, Ph) ; 7,26 (d, $J=8,5\text{Hz}$, 2H, Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ = 52,5 ; 55,2 ; 59,3 ; 59,8 ; 69,6 ; 113,6 ; 114,2 ; 123,7 ; 130,6 ; 132,0 ; 159,5 ; 169,0 ; 202,0.

IR (KBr, cm^{-1}) : 1612 ; 1741 ; 2836 ; 2960 ; 3013 ; 3434.

Analyse élémentaire (%) : calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$: C=61,90 ; H=6,39 ; trouvée C=62,03 ; H=6,44.

b) Préparation du composé (9b).

25

Le produit de condensation (8a) préparé ci-dessus (5,65 g ; 22,4 mmol ; 1 éq) est dissous dans le THF (47 mL) dans un ballon de 100 mL. La triéthylamine (3,7 mL ; 26,6 mmol ; 1,2 éq.) puis le chlorure de triméthylsilyle (3,7 mL ; 29 mmol ; 1,3 éq.) sont ajoutés à la seringue. On observe immédiatement la

formation d'un précipité blanc. On laisse réagir une nuit à température ambiante. Après évaporation du THF, le résidu est repris dans le pentane. Le précipité formé est filtré sur fritté puis sur millipore 5 μ m et
5 rincé au pentane. Après évaporation, 7,28 g d'une huile orange sont obtenus.

Le dérivé monosilylé obtenu (7,27 g ; 22,4 mmol ; 1 éq.) est placé dans un ballon de 100 mL et dissous dans le THF (33 mL). Le mélange est refroidi
10 vers -70°C . Une solution de LDA (lithium diisopropylamidure) 2M dans l'heptane (11,2 mL ; 22,4 mmol ; 1 éq.) est ajoutée goutte à goutte à la seringue et le mélange est maintenu 1 heure vers -70°C . Le chlorure de triméthylsilyle (3,4 mL ; 26,7 mmol ; 1,2
15 éq.) est additionné à la seringue et le mélange est ramené à la température ambiante en 3 heures. Après évaporation du THF, le résidu est repris dans le pentane et le précipité blanc formé est filtré sur fritté puis sur millipore 5 μ m. Après concentration,
20 8,52 g d'une huile orange sont obtenus. Rendement = 95 %. Deux isomères géométriques sont présents dans cet échantillon.

RMN ^1H (CDCl_3) : δ = 0,04 (s, 9H, OSiMe_3 isomère
25 majoritaire) ; 0,05 (s, 9H, OSiMe_3 isomère minoritaire) ; 0,28 (s, 9H, OSiMe_3 isomère minoritaire) ; 0,30 (s, 9H, OSiMe_3 isomère majoritaire) ; 3,46 (s, 3H, OMe isomère majoritaire) ; 3,49 (s, 3H, OMe isomère minoritaire) ; 3,51 (s, 3H,
30 OMe isomère minoritaire) ; 3,56 (s, 3H, OMe isomère majoritaire) ; 3,80 (2s, 2*3H, OMe isomère minoritaire

et Ome isomère majoritaire) ; 5,62 (s, 1H, CH isomère majoritaire) ; 5,95 (s, 1H, CH isomère minoritaire) ; 6,83 (d, J=8,5 Hz, 2H, Ph) ; 7,24-7,31 (m, 2H, Ph).

5 c) Préparation du composé (10a).

Dans un tricol de 1 L, le dérivé bis-silylé (9b) préparé ci-dessus (8,52 g ; 21,4 mmol ; 1 éq.) est dissous dans du dichlorométhane (400 mL) et le mélange
10 est refroidi vers -70 °C. Le chlorure d'oxalyde (2,5 mL ; 28,6 mmol ; 1,3 éq.) est ajouté à la seringue et le milieu devient orange. Une solution de triflate de triméthylsilyle (1,2 mL ; 6,6 mmol ; 0,3 éq.) dans le dichlorométhane (120 mL) est coulée par une ampoule à
15 additionner en une heure. Le bain froid est saturé de carboglace pour que le milieu réactionnel revienne très lentement à température ambiante au cours de la nuit. Après hydrolyse par une solution saturée de NaCl, on extrait 3 fois avec du dichlorométhane, on sèche sur
20 MgSO₄, on filtre et on concentre. On récupère 7,95 g d'un solide marron. Après chromatographie sur colonne de silice (éluant : acétate d'éthyle/pentane : 1/1), on obtient 3,53 g de produit (5'). Aspect : solide jaune, T_{fusion}= 160°C, Rendement= 54 %, isomère (E).

25

RMN ¹H (CD₃OD) : δ= 3,85 (s, 3H, OMe ou CO₂Me) ; 3,87 (s, 3H, CO₂Me ou OMe) ; 4,16 (s, 3H, OMe phényle) ; 6,96-9,99 (m, 2H, Ph) ; 7,47-7,50 (m, 2H, Ph).

RMN ^{13}C (acétone- d_6) : δ = 52,3 ; 55,2 ; 59,8 ; 113,5 ; 114,5 ; 124,6 ; 130,6 ; 131,7 ; 139,9 ; 143,3 ; 160,4 ; 164,5 ; 167,3.

IR (KBr, cm^{-1}) : 1667 ; 1731 ; 3239 ; 3295.

5 Analyse élémentaire (%) : calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_7$:
C=58,82 ; H=4,61 ; trouvée C=59,07 ; H= 4,92.

d) Préparation du composé (5b).

10 Dans un ballon de 250 mL, l'alcool (10a)
préparé ci-dessus (3,24 g ; 10,6 mmol ; 1 éq.) est mis
en suspension dans le dichlorométhane (100 mL) et le
mélange est refroidi vers -70°C . La pyridine (2,2 mL ;
27 mmol ; 2,5 éq.) puis l'anhydride triflique (2,2 mL ;
15 13 mmol ; 1,2 éq.) sont ajoutés à la seringue. Après
retour à température ambiante en 6 heures, le mélange
est hydrolysé, lavé 3 fois à l'eau, séché sur MgSO_4 ,
filtré et concentré. Après chromatographie sur colonne
de silice (éluant : dichlorométhane), on isole 3,14 g
20 de triflate (VI). Aspect : solide jaune ; $T_{\text{fusion}}=93^\circ\text{C}$;
Rendement=68%, isomère (E).

RMN ^1H (CDCl_3) : δ = 3,85 (s, 3H, OMe) ; 3,90 (s, 3H,
OMe) ; 4,29 (s, 3H, OMe) ; 6,94 (d, $J=9,2$ Hz, 2H, Ph).

25

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ = 53,1 ; 55,5 ; 61,1 ; 114,6 ; 116,4 ;
120,6 ; 122,6 ; 129,4 ; 131,4 ; 135,7 ; 155,8 ; 161,3 ;
166,1.

30 Masse [m/z (%)] : 456 (100) ($\text{M}+\text{NH}_4^+$) ; 439 (11) ($\text{M}+1$).

44

IR (KBr, cm^{-1}) : 1604 ; 1643 ; 1667 ; 1733 ; 1744 ;
1783 ; 1802 ; 2961.

e) Préparation du composé (4a).

5

Le bistriflate dérivé du 1,7-dihydroxynaphtalène (157 mg ; 0,98 mmol), le pinacolborane (0,44 mL ; 3 mmol), le PdCl_2 (44 mg ; 0,06 mmol), la triéthylamine (0,84 mL ; 6 mmol) et le
10 dioxane préalablement dégazé (8 mL) sont introduits dans un bicol de 50 mL et placés sous atmosphère d'argon. On porte à reflux pendant 2 heures sous agitation. Après hydrolyse par 20 mL d'eau, la phase aqueuse est extraite 3 fois avec du dichlorométhane.
15 Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : hexane/acétate d'éthyle : 8/2) permet d'isoler 104 mg de dérivé boré ; Rendement=43%.

20

RMN ^1H (CDCl_3) : δ = 1,43 et 1,49 (2s, chacun 12H, Me) ;
7,55 (t , 1H , $J=6,7$ Hz , g) ; 7,88 (m , 2H) ; 7,97
(d , 1H , $J=6,7$ Hz) ; 8,09 (d , 1H , $J=6,7$ Hz) ; 9,31
(s , 1H).

25

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ = 24,8 ; 83,6 ; 126,9 ; 128,2 ;
125,7 ; 127,2 ; 129,8 ; 130,1 ; 130,9 ; 134,7 ; 136,0 ;
136,5.

30

f) Préparation du composé final (III).

Le triflate (5b) préparé ci-dessus (214 mg ; 0,488 mmol ; 2,1 éq.), le 1,7-bis(4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)naphatlène (89 mg ; 0,234 mmol ; 1 éq.) (4b) le dichlorobis(triphénylphosphine)palladium (19 mg ; 0,003 mmol ; 0,1 éq.) et 20 mL de THF préalablement dégazé sont introduits dans un bicol de 50 mL et placés sous atmosphère d'argon. Une solution aqueuse 2M de bicarbonate de sodium (4,8 mL) est ajoutée. On porte à reflux pendant 3 heures. Après hydrolyse par 30 mL d'eau, la phase aqueuse est extraite 3 fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : hexane/acétate d'éthyle : 6/4) permet d'isoler 104 mg de composé (). Aspect : solide jaune. Rendement : 63%.

RMN ^1H (CDCl_3): δ = 3,63 (s, 3H, OMe énolique) ; 3,80 (s, 3H, OMe phénolique ; 3,86 ; 3,87 ; 3,90 ; 3,92 (4s, 3H chacun, OMe phénoliques, CO_2Me) ; 6,94-6,99 (m, 4H, CHCOMe) ; 7,57-7,59 (m, 2H) ; 7,66-7,74 (m, 5H) ; 7,90 (s, 1H) ; 7,96-7,99 (m, 2H).

25

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ = 52,6 ; 55,2 ; 60,6 ; 61,5 ; 103,4 ; 106,5 ; 114,1 ; 116,9 ; 123,2 ; 125,9 ; 126,5 ; 127,3 ; 127,5 ; 128,7 ; 129,3 ; 130,1 ; 130,6 ; 130,7 ; 131,3 ; 133,1 ; 139,4 ; 139,5 ; 160,3 ; 163,0 ; 164,0 ; 166,8 ; 168,0.

30

Analyse élémentaire (%) : calculée pour $C_{40}H_{32}O_{12}$:
C=68,18 ; H=4,58 ; trouvée C=68,03 ; H=4,83.

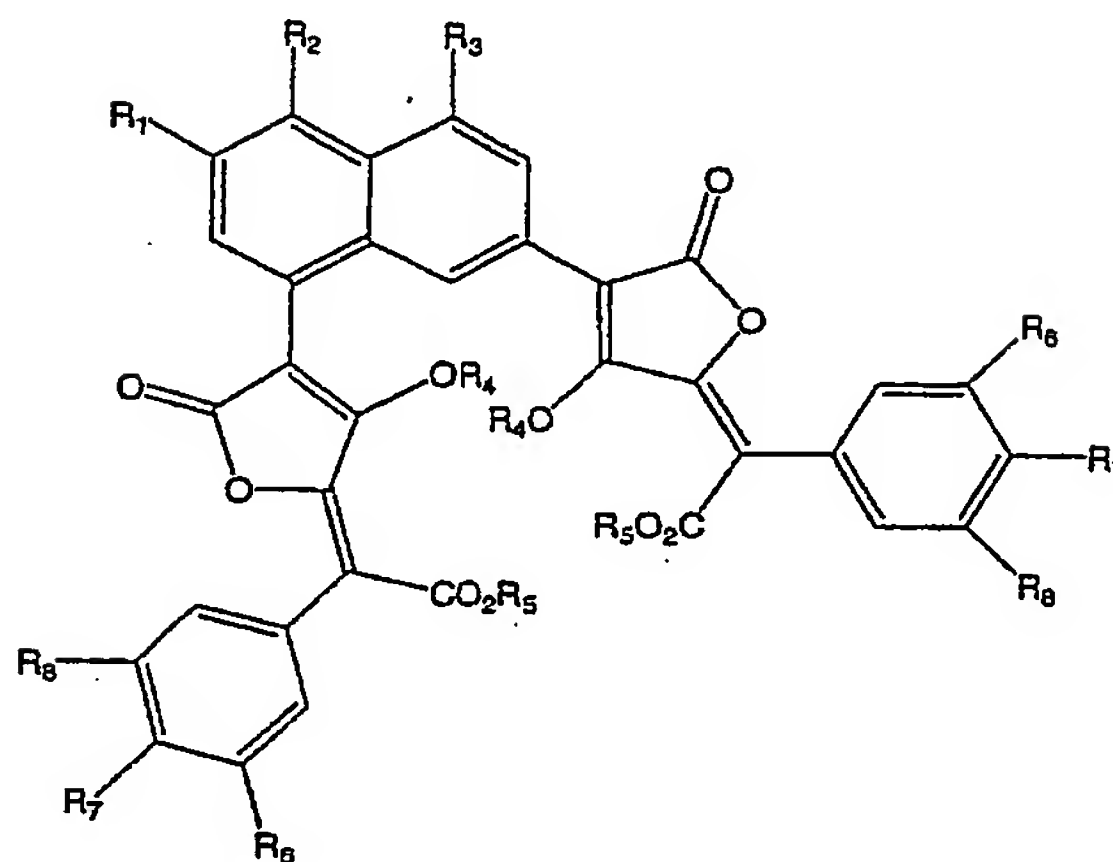
Références citées.

- [1] M.Jang et al, « Cancer Chemoprotective Activity of
5 Resveratrol, a natural product derived from
grapes », Science 1997, 275, 218-220 ;
- [2] M.V Eberhardt et al. « Antioxydant Activity of
Fresh Apples », Nature 2000, 405, 903-904 ;
- 10 [3] T.Finkel et al. « Oxydants, Oxidative Stress and
the biology of ageing », Nature 2000, 408, 239-
247 ;
- 15 [4] « Pigments from the cap cuticle of the Bay
Boletus », Angew.Chem.Int.Ed.Engl.23(1984),n°6 ;
- [5] « A naphtalenoid pulvinic acid derivative from the
Fungus Pisolithus Tinctorius », Phytochemistry, vol
20 24, n°6, pp 1351-1354, 1985 ;
- [6] P.Langer et al.,« Domino Reaction of 1,3-
bis(trimethylsilyloxy)-1,3-dienes with Oxalyl
Chloride : General and Stereoselective Synthesis of
25 γ -Alkylidenebutenolides » Chem.Eur.J.2000, 6, N°7,
3204-3214;
- [7] Cook et al, Journal of Immunological Methods, 2001,
254, pages 109-118 ;

[8] Papazisis et col « Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay », J.Immunol.Meth, 208, pages 151-158, 1997 [8].

REVENDICATIONS

1. Composé répondant à la formule (I) suivante :



(I)

dans laquelle :

- les R_1 , R_6 , R_7 et R_8 , identiques ou différents, représentent H, -OH ou -OR₉ ;
 - R_2 représente H, -OH ou -OR₉ ; R_3 représente H, R_9 , -CO₂R₉ ou -CO-NHR₁₀ ; ou R_2 et R_3 forment ensemble -O-CO- ;
 - les R_4 et R_5 , identiques ou différents, représentent H ou R_9 ;
 - R_9 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 20 atomes de carbone ;
 - R_{10} représente R_9 ou un groupe $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$, avec a et b , identiques ou différents, étant des entiers allant de 2 à 4 ;
- et les sels de ces composés ;
- à l'exception :
- du composé pour lequel R_2 et R_3 forment ensemble un groupe -OCO-, les R_4 , R_5 , R_6 et R_8

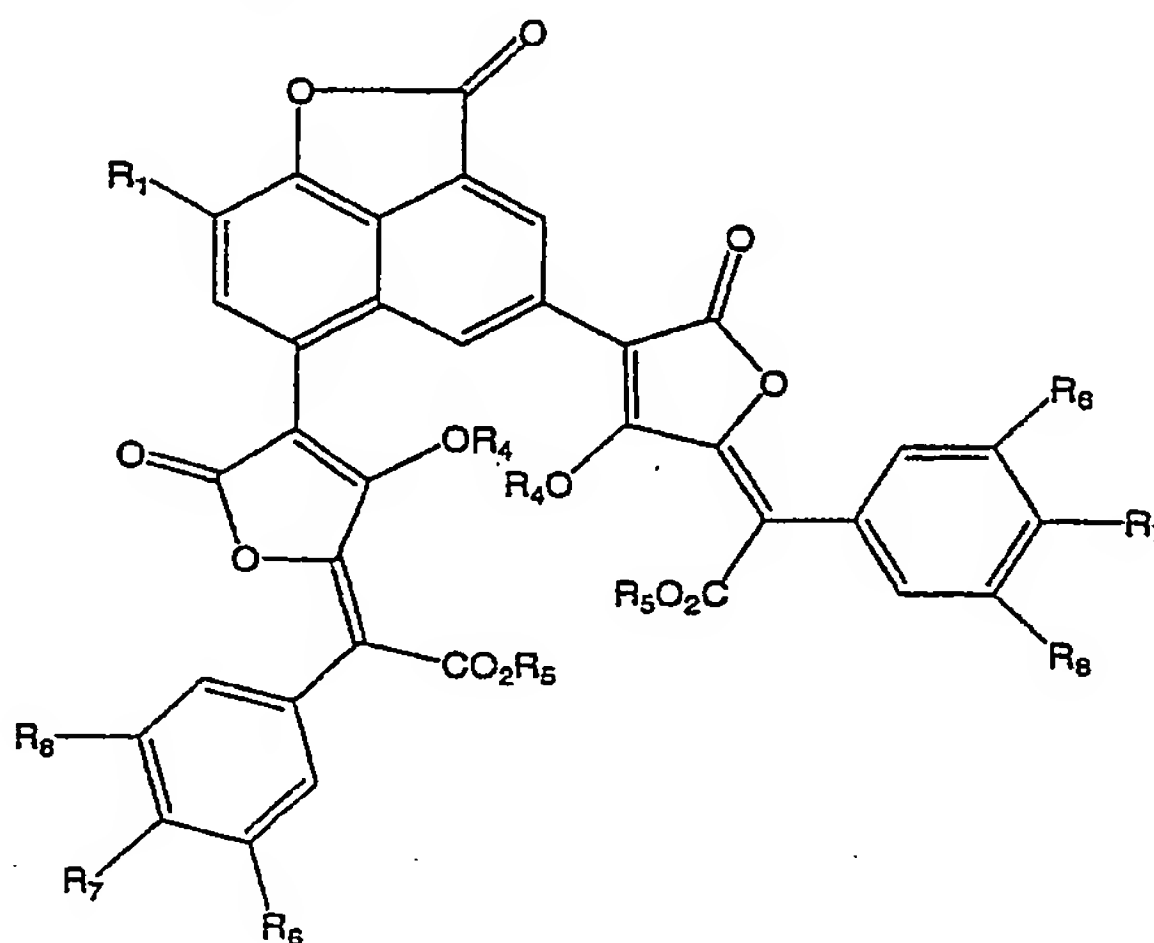
représentent H, les R_1 et R_7 représentent -OH et les disels de potassium correspondants à ce composé ;

- du composé dans lequel R_2 et R_3 forment ensemble un groupe -O-CO-, les R_1 et R_7 représentent -OCH₃, les R_4 et R_5 représentent -CH₃ et les R_6 et R_8 représentent H ;

- du composé dans lequel les R_1 , R_2 et R_7 représentent -O-CH₃, R_3 représente -CO₂CH₃, les R_4 et R_5 représentent CH₃ et les R_6 et R_8 représentent H.

10

2. Composé selon la revendication 1, pour lequel R_2 et R_3 forment ensemble un groupement -O-CO-, ledit composé répondant à la formule (II) suivante :



15

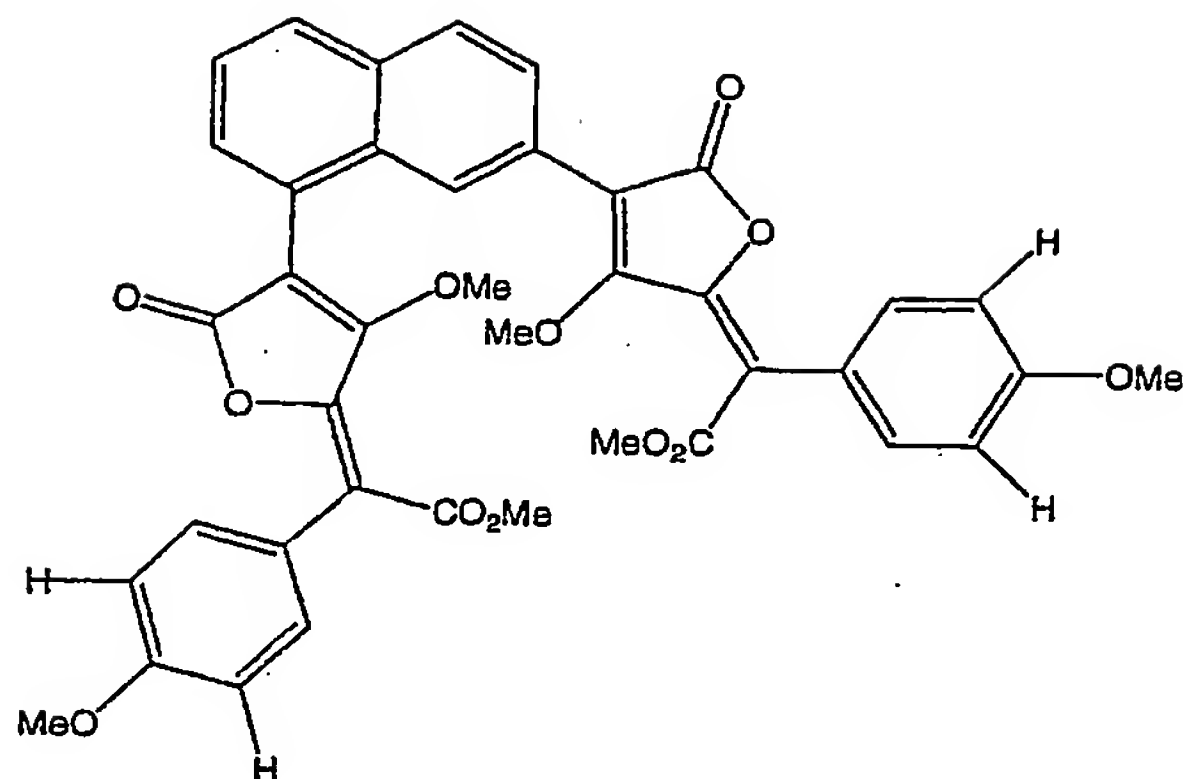
(II)

les R_1 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 et R_8 ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 1.

3. Composé répondant à la formule (III) suivante :

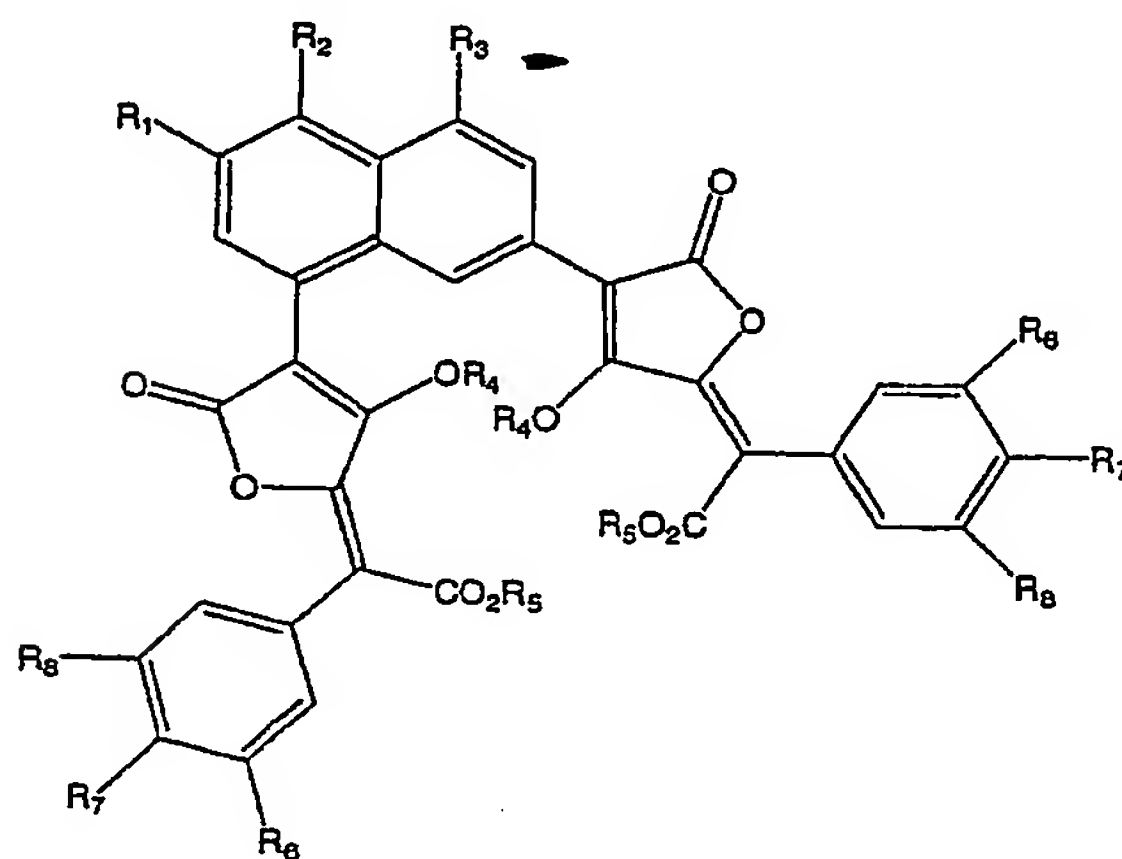
20

51



(III)

4. Procédé de préparation d'un composé de
5 formule (I) suivante :

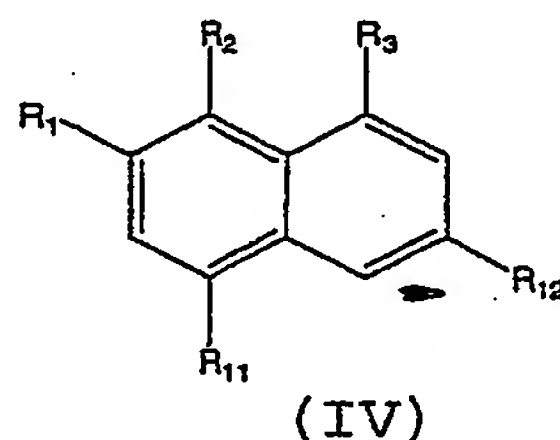


(I)

dans laquelle :

- 10 - les R_1 , R_6 , R_7 et R_8 , identiques ou
différents, représentent H, -OH ou -OR₉ ;
- R_2 représente H, -OH ou -OR₉ ; R_3
représente H, R_9 , -CO₂R₉ ou -CO-NHR₁₀ ; ou R_2 et R_3
forment ensemble -O-CO- ;
- 15 - les R_4 et R_5 , identiques ou différents,
représentent H ou R_9 ;

- R_9 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 20 atomes de carbone ;
 - R_{10} représente R_9 ou un groupe $-(CH_2)_a-NH-(CH_2)_b-NH_2$, avec a et b , identiques ou différents, étant des entiers allant de 2 à 4 ;
- et les sels de ces composés,
ledit procédé comprenant successivement :
- une étape consistant à faire réagir un composé de formule (IV) suivante :

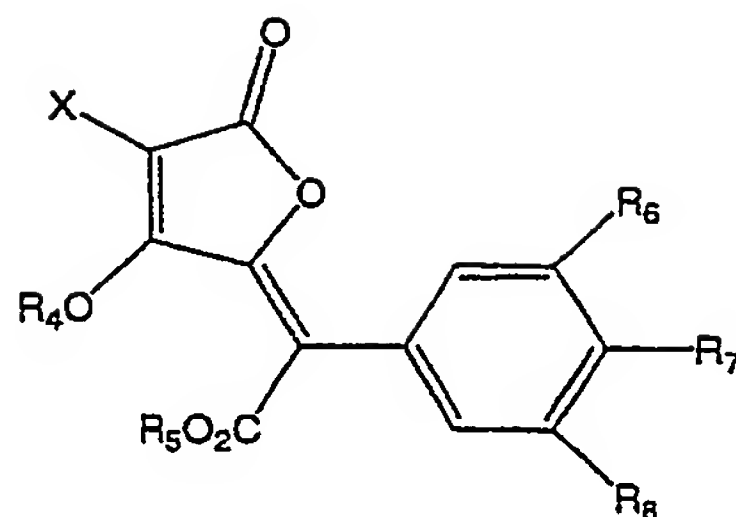


10

dans laquelle :

- les R_1 , R_2 et R_3 ont la même définition que celle donnée dans la revendication 1;
 - 15 -les R_{11} , R_{12} représentent, indépendamment, $-B(OR_{13})(OR_{14})$ ou $-Sn(R_{15})_3$;
 - les R_{13} et R_{14} , identiques ou différents, représentent H ou un groupe alkyle de 1 à 7 atomes de carbone ou les R_{13} et R_{14} forment ensemble un groupe alkylène linéaire
 - 20 ou ramifié ;
 - R_{15} représente un groupe méthyle ou butyle,
- avec un composé de formule (V) suivante :

53



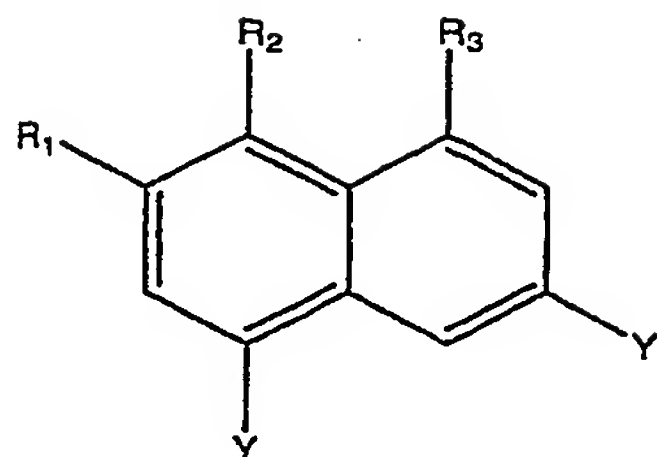
(V)

dans laquelle :

- 5 -les R₄, R₅, R₆, R₇ et R₈ répondent à la même définition que celle donnée dans la revendication 1;
- X représente un groupe partant,
- l'adite réaction s'effectuant en présence d'une base et d'un catalyseur à base de platine ou palladium ; et
- 10 -éventuellement une étape de traitement destinée à obtenir un sel correspondant au composé de formule (I).

5. Procédé de préparation selon la revendication 4, dans lequel le catalyseur à base de platine est le dichlorobis(triphénylphosphine)palladium.

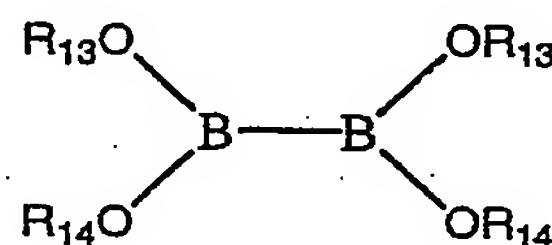
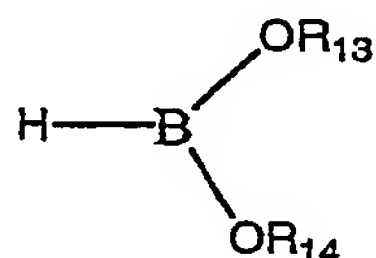
6. Procédé de préparation selon la revendication 4 ou 5, dans lequel le composé intermédiaire (IV), avec R₁₁ et R₁₂ représentant -B(OR₁₃)(OR₁₄), est préparé par réaction d'un composé dérivé du naphthalène de formule (VI) :



(VI)

dans laquelle :

- les R₁, R₂ et R₃ ont la même définition que celle donnée dans la revendication 1 ;
 - les Y, identiques ou différents, représentent des groupes partants ;
- avec un composé boré répondant à l'une des formules suivantes :



10

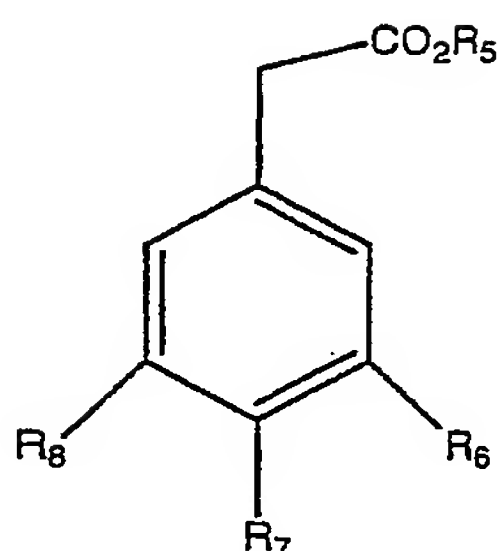
R₁₃ et R₁₄ ayant la même signification que celle donnée dans la revendication 4, ladite réaction s'effectuant en présence d'une base et d'un catalyseur à base de platine ou de palladium.

7. Procédé de préparation selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, dans lequel le composé intermédiaire (V) est préparé par la succession d'étapes suivantes :

20

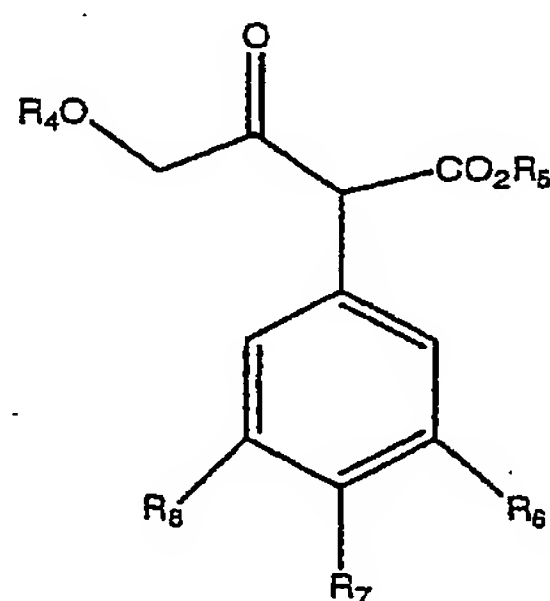
a) réaction d'un phénylacétate de formule (VII) suivante :

55



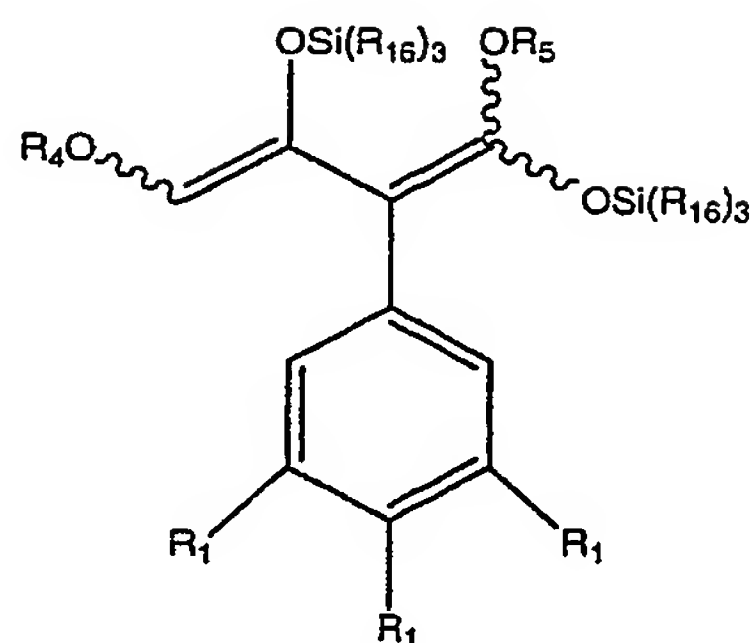
(VII)

les R₅, R₆, R₇ et R₈, ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 1, en milieu basique, avec
 5 un α -alcoxyacétate d'alkyle de formule R₄O-CH₂-CO-OAlk, R₄ répondant à la même définition que celle donnée dans la revendication 1, le groupement Alk étant un groupement alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 20 atomes de carbone, à l'issue de laquelle l'on
 10 obtient un composé de formule (VIII) suivante :



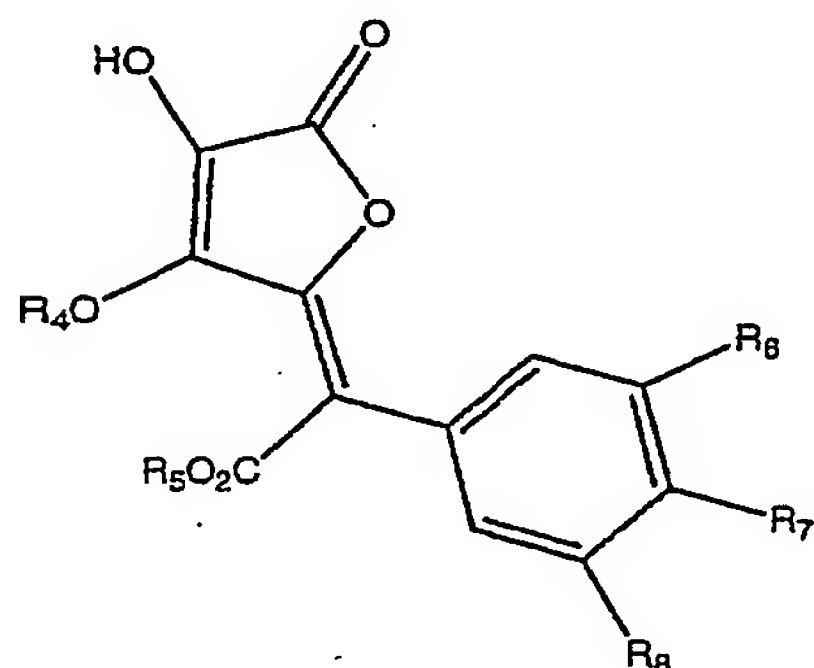
(VIII)

b) réaction du composé (VIII), en milieu basique avec
 15 un composé silylé de formule (R₁₆)₃SiHal, R₁₆ étant un groupe alkyle linéaire ou ramifié comportant de 1 à 4 atomes de carbone, Hal étant un groupe halogène, tel que F, Cl, Br, I, à l'issue de laquelle l'on obtient un composé disilylé de formule (IX) :



(IX)

c) réaction de cyclisation du composé (IX) avec le
 5 chlorure d'oxalyde $(ClCO)_2$, à l'issue de laquelle l'on
 obtient le composé de formule (X) :

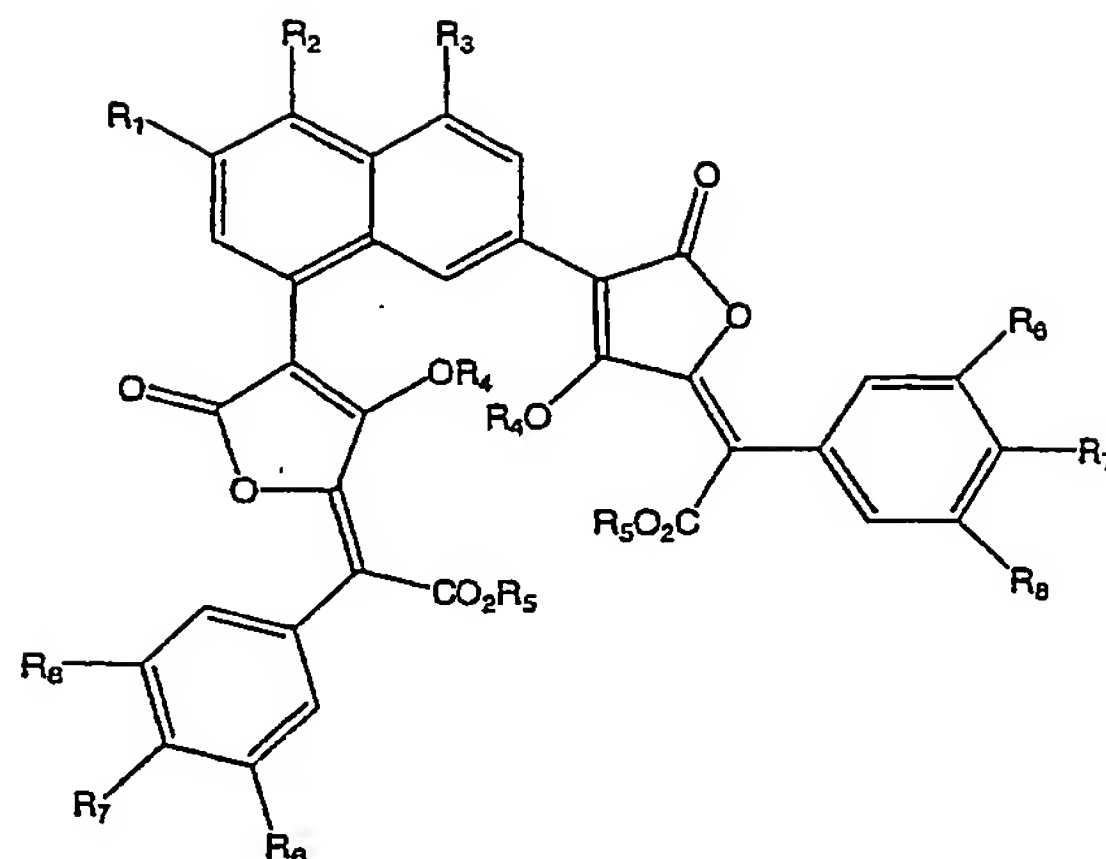


(X)

d) réaction du composé avec un réactif apte à former
 10 par réaction avec le $-OH$ du cycle lactone un groupe
 partant X à l'issue de laquelle l'on obtient le composé
 de formule (V).

8. Agent antioxydant de formule (I)
 15 suivante :

57



(I)

dans laquelle :

5 - les R₁, R₆, R₇ et R₈, identiques ou différents, représentent H, -OH ou -OR₉ ;

- R₂ représente H, -OH ou -OR₉ ;

- R₃ représente H, R₉, -CO₂R₉ ou -CO-NHR₁₀ ;

ou

- R₂ et R₃ forment ensemble -O-CO- ;

10 - les R₄ et R₅, identiques ou différents, représentent H ou R₉ ;

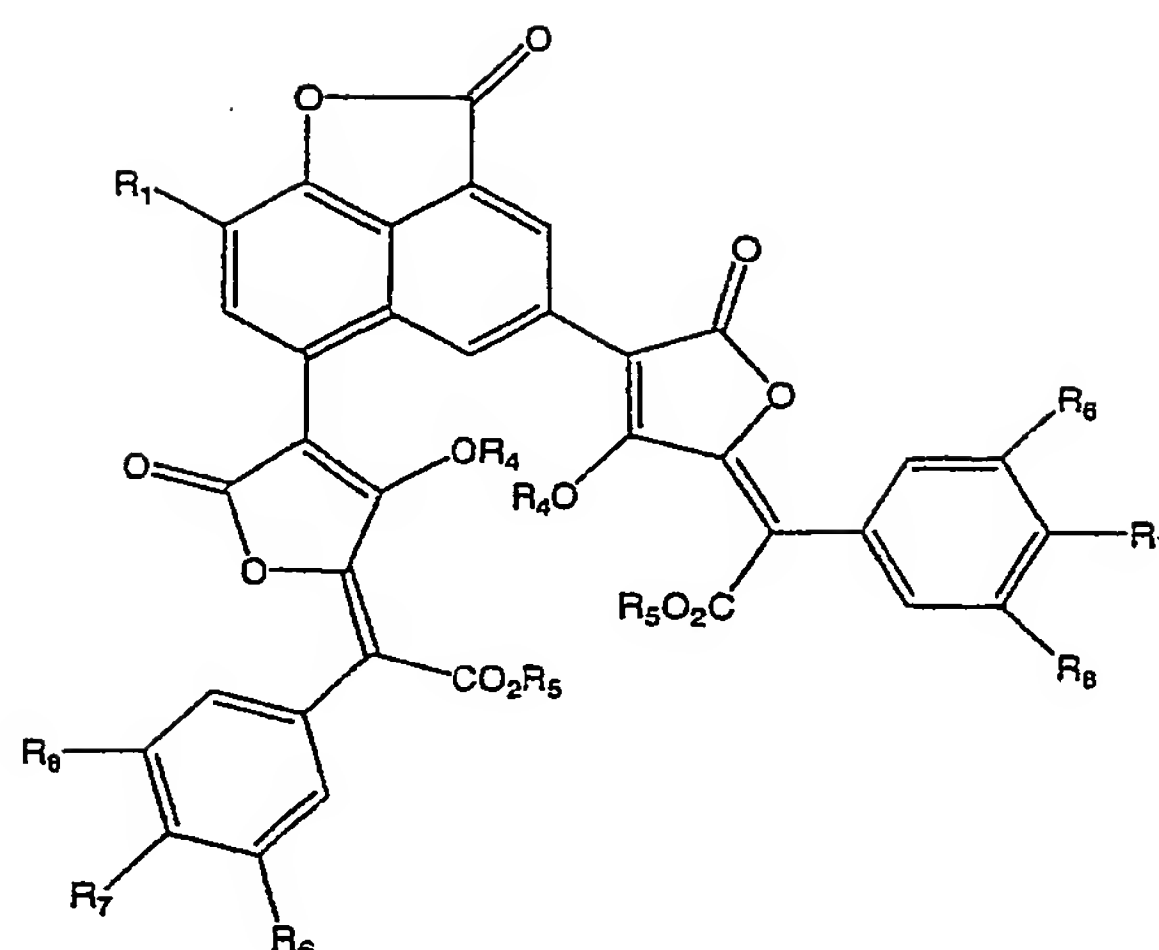
- R₉ représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 20 atomes de carbone ;

15 - R₁₀ représente R₉ ou un groupe -(CH₂)_a-NH-(CH₂)_b-NH₂, avec a et b, identiques ou différents, étant des entiers allant de 2 à 4 ;

et les sels de ceux-ci.

9. Agent antioxydant selon la revendication
20 8, pour lequel R₂ et R₃ forment ensemble un groupement -O-CO-, répondant à la formule (II) suivante :

58

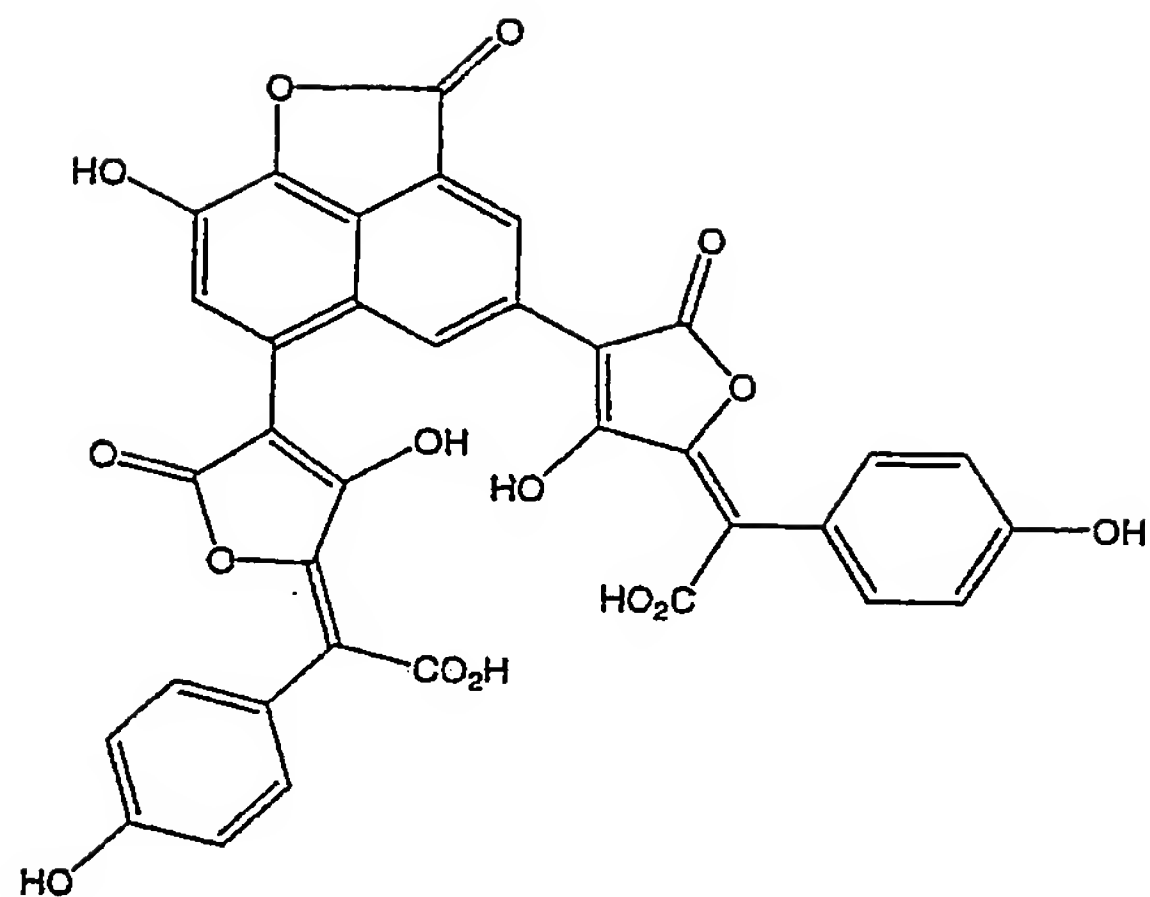


(II)

5 les R₁, R₄, R₅, R₆, R₇ et R₈ ayant la même définition que celle donnée dans la revendication 8.

10 10. Agent antioxydant selon la revendication 8, dans lequel les R₄, R₅, R₆ et R₈ correspondent à un atome d'hydrogène, les R₁ et R₇ représentent -OH, ledit composé répondant à la formule (XI) suivante :

59

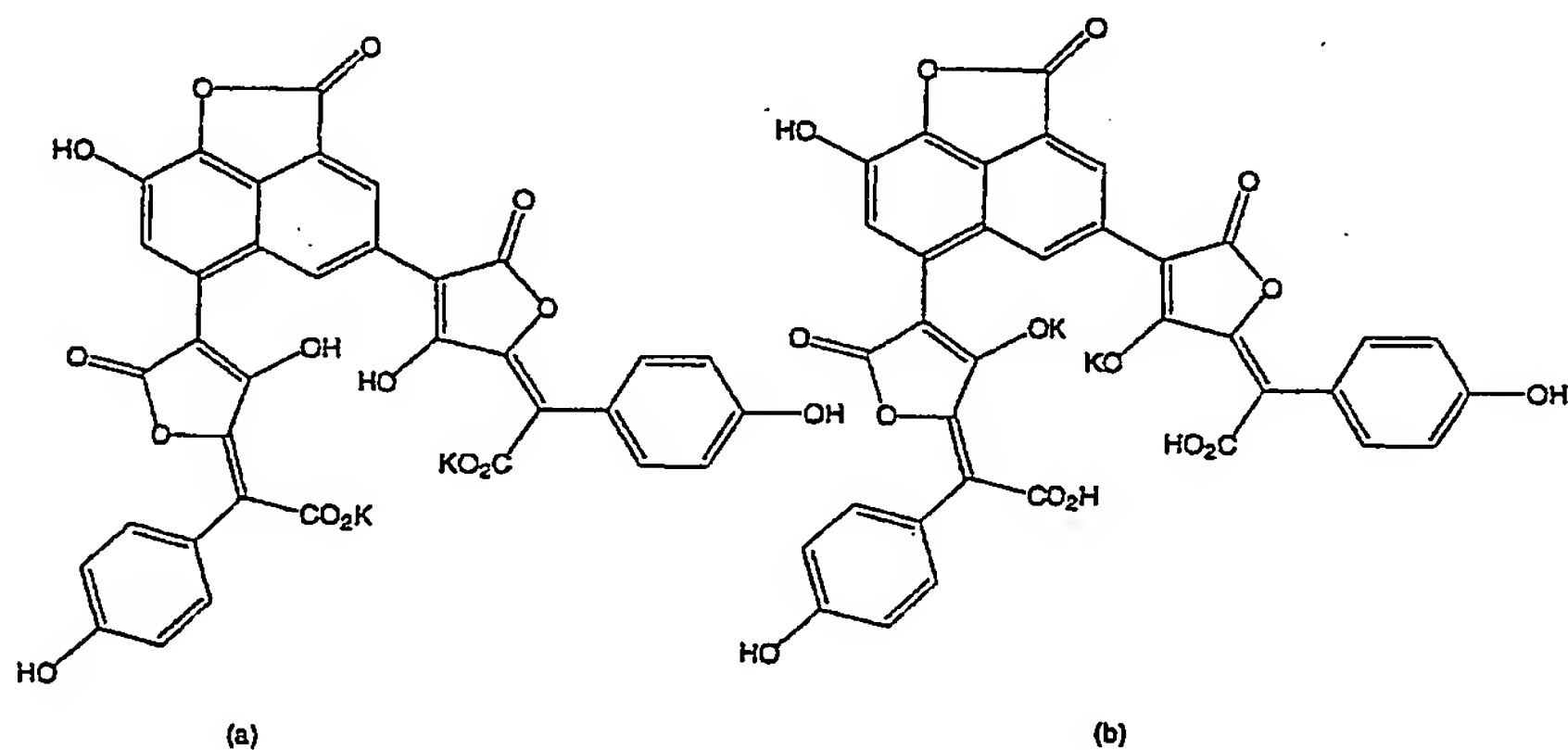


(XI)

5

11. Agent antioxydant selon la revendication 8, correspondant au diesel potassique du composé de formule (XI) de la revendication 10, ledit diesel, existant sous deux formes (a) et (b) répondant à la formule (XII) suivante :

10



(XII)

15

12. Composition pharmaceutique comprenant au moins un agent antioxydant selon l'une quelconque des revendications 8 à 11 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

13. Composition cosmétique comprenant au moins un agent antioxydant selon l'une quelconque des revendications 8 à 11.

10

14. Composition alimentaire comprenant au moins un agent antioxydant selon l'une quelconque des revendications 8 à 11.

15 15. Utilisation d'un agent antioxydant tel que défini dans les revendications 8 à 11 pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée au traitement de maladies inflammatoires.

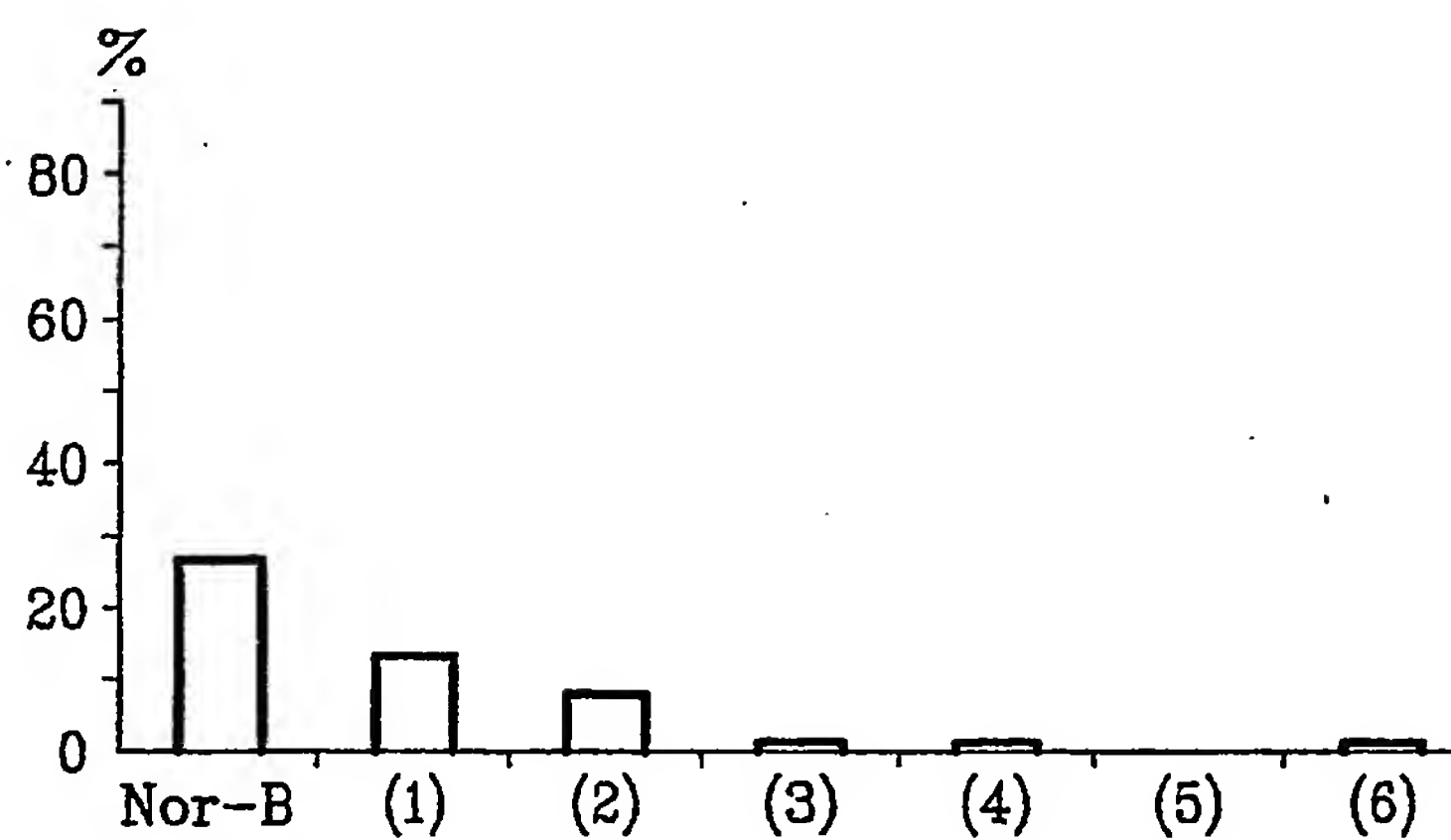
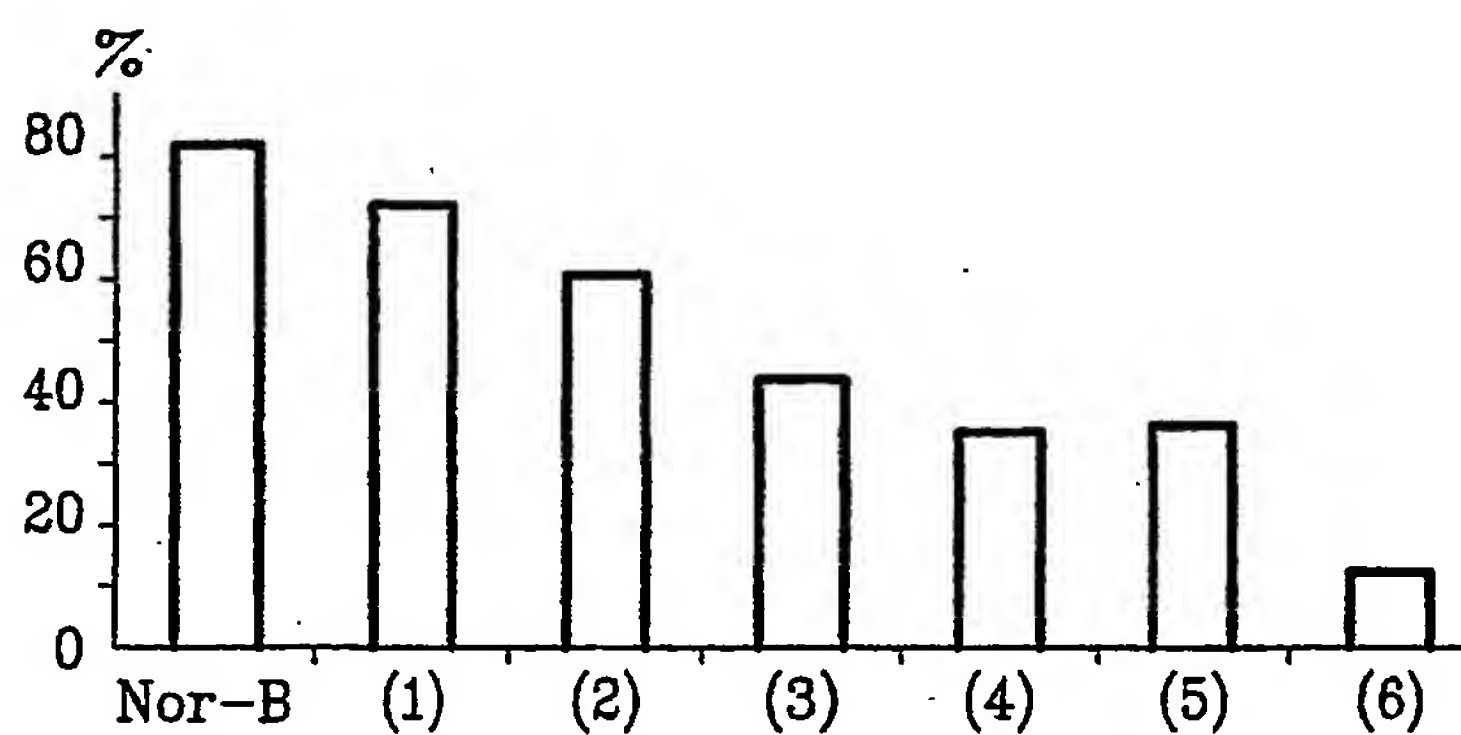
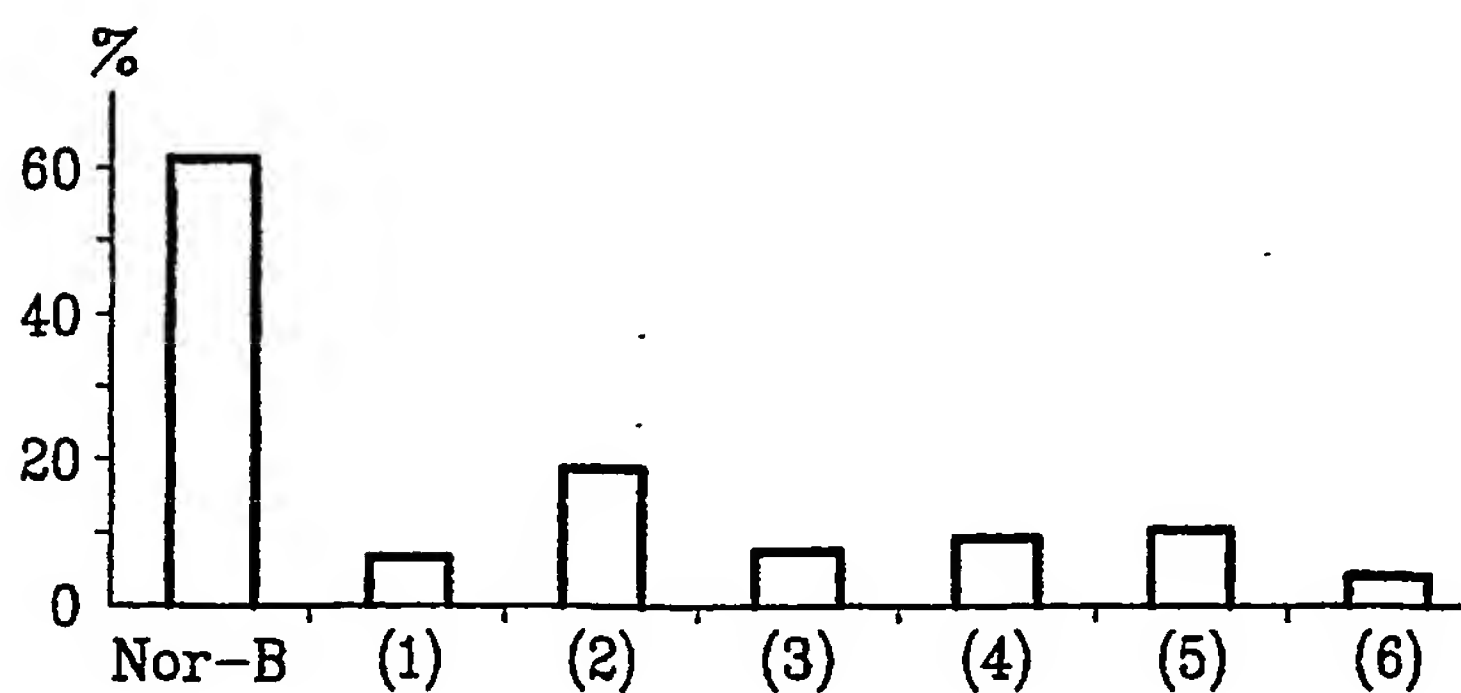
20 16. Utilisation d'un agent antioxydant tel que défini dans les revendications 8 à 11 pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée au traitement d'un organisme vivant exposé à un rayonnement ionisant induisant la production de radicaux libres.

25

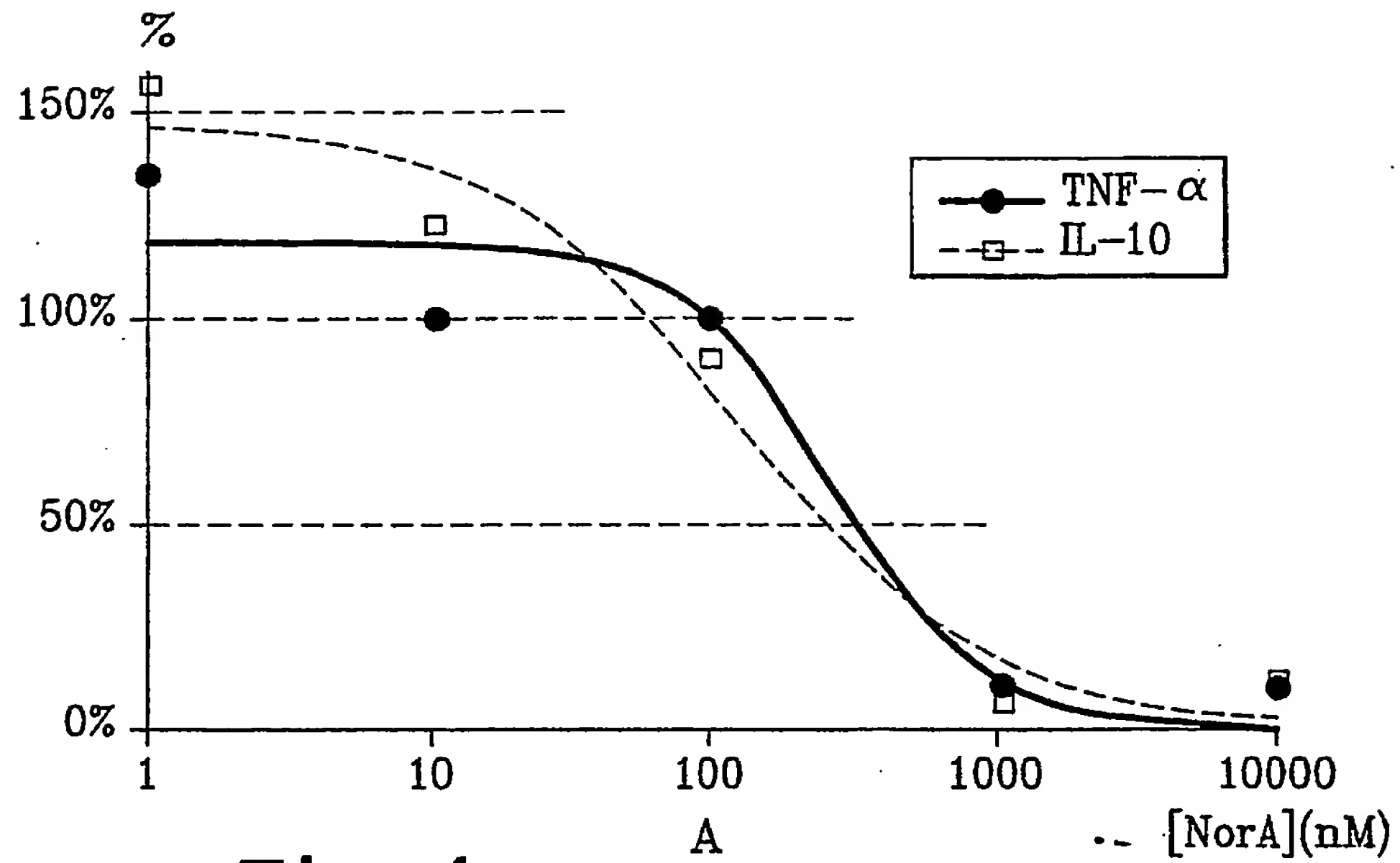
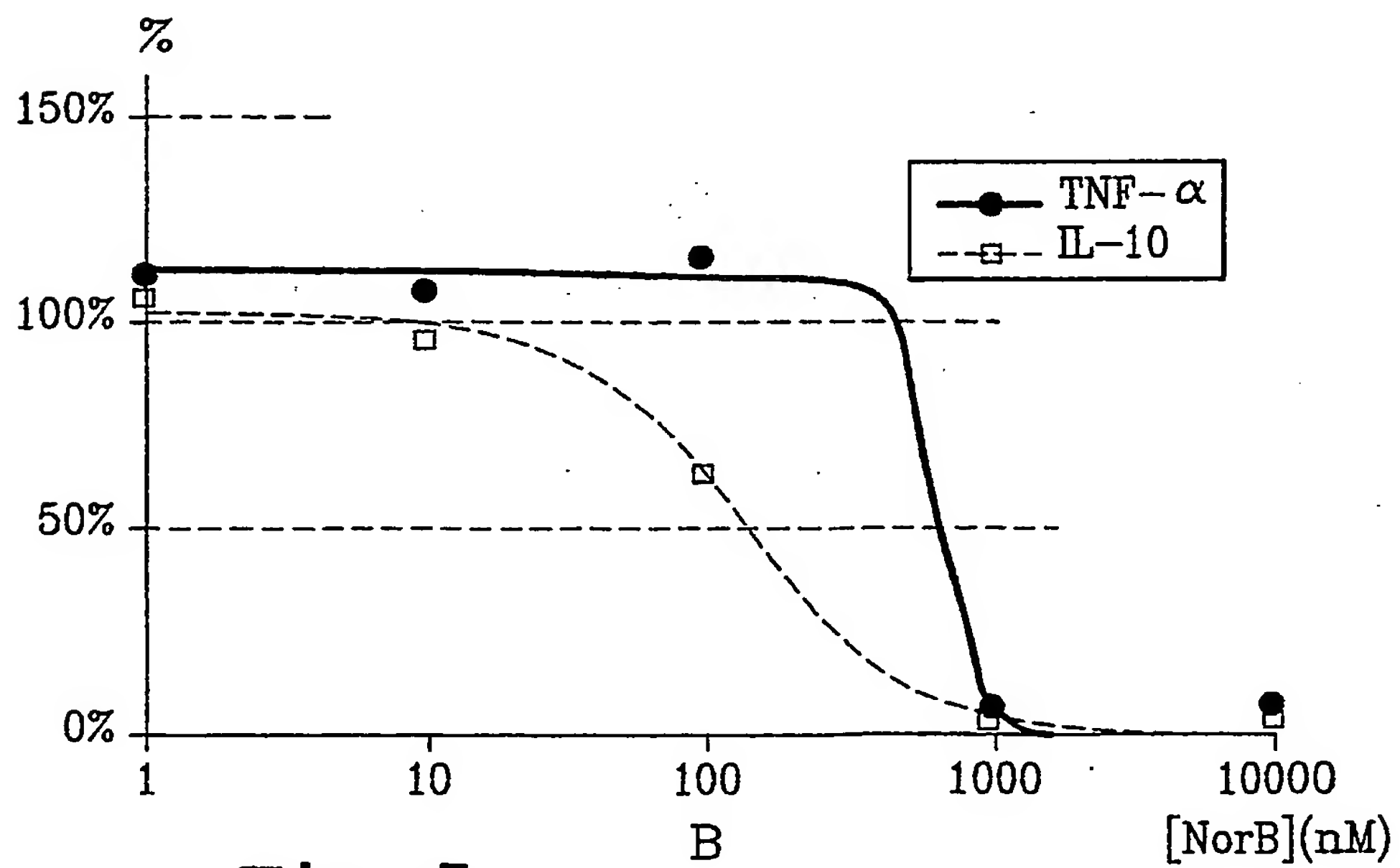
17. Utilisation d'un agent antioxydant tel que défini dans les revendications 8 à 11 pour la fabrication d'une composition pharmaceutique destinée à inhiber les effets secondaires d'un médicament induisant la production de radicaux libres.

30

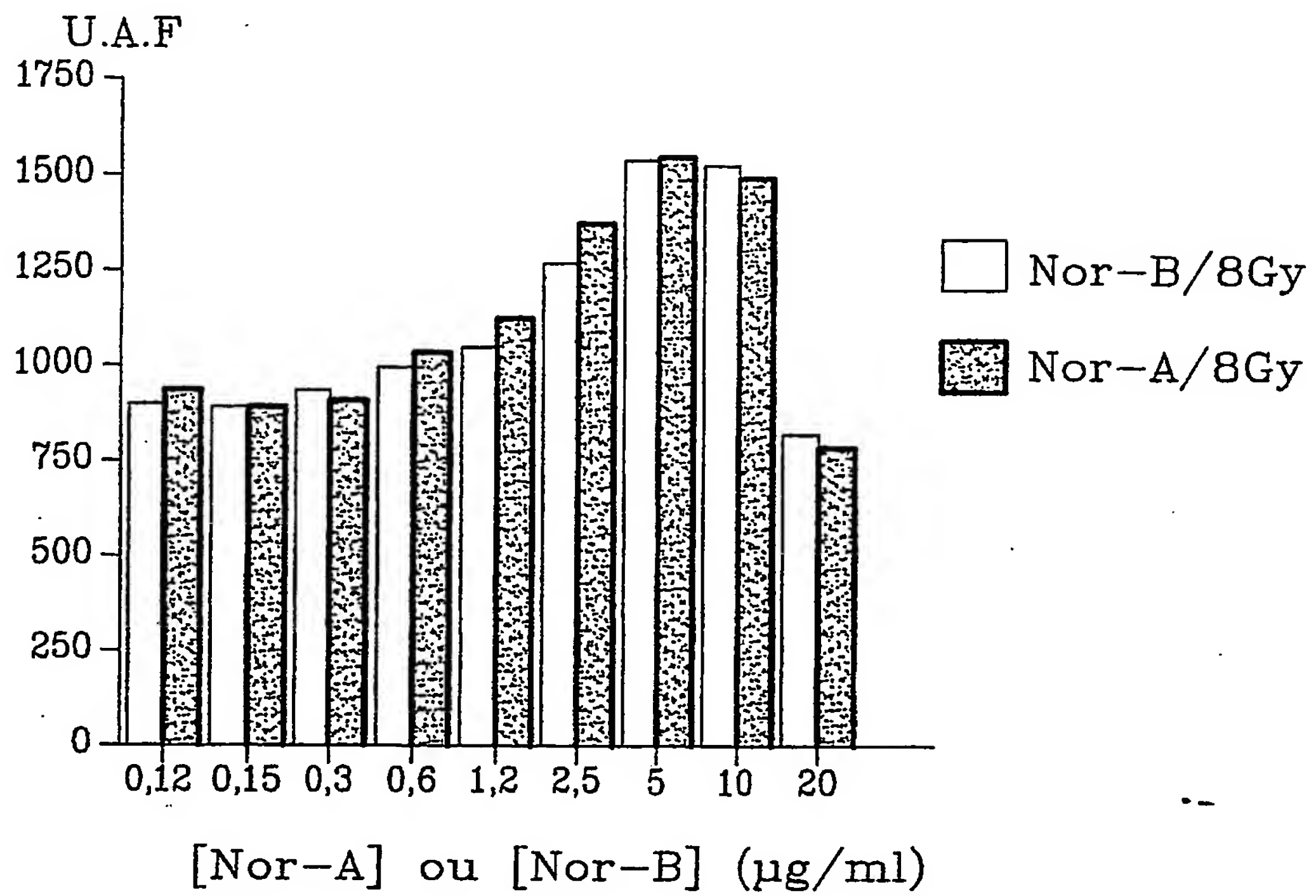
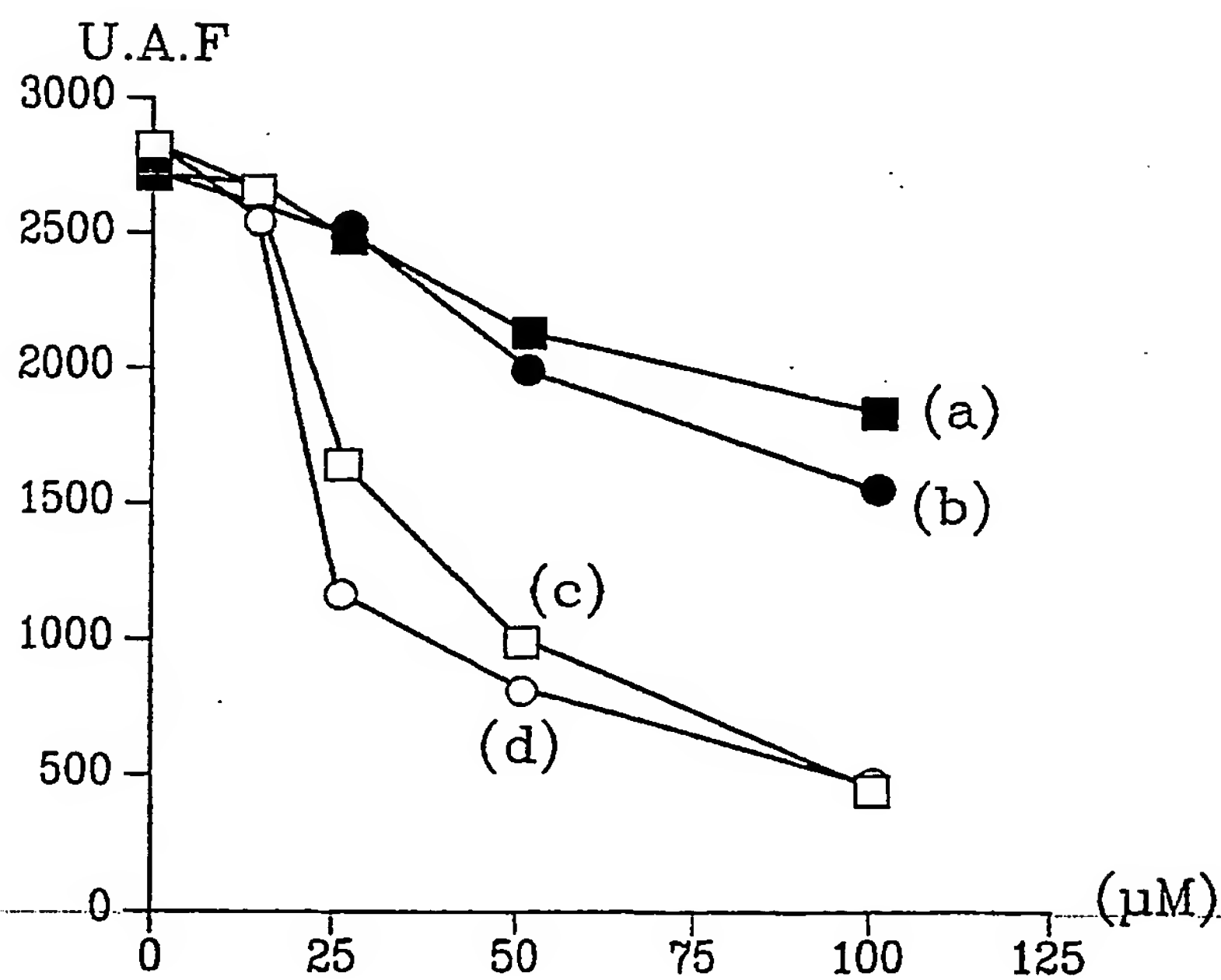
1/4

Fig. 1Fig. 2Fig. 3

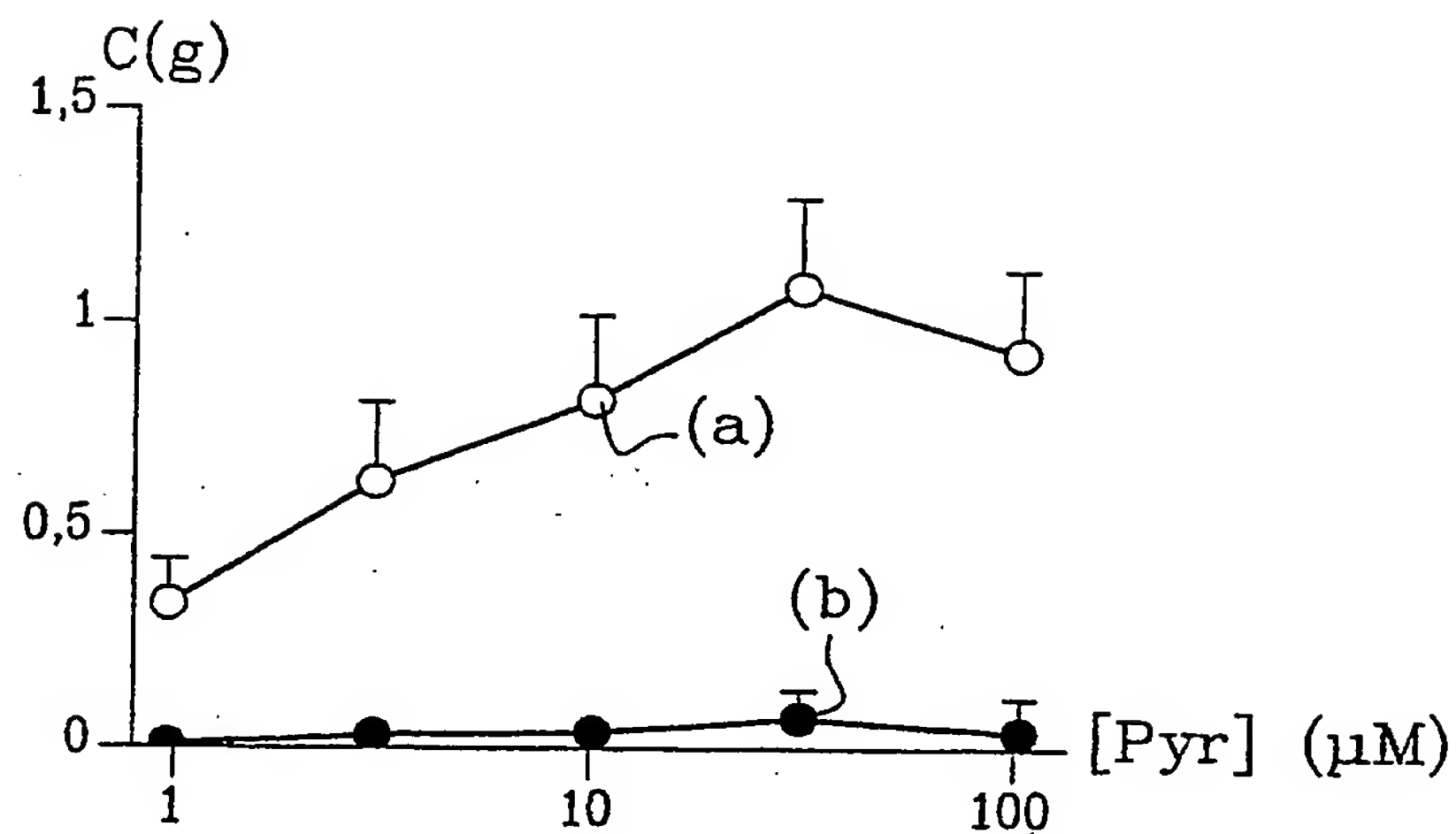
2/4

Fig. 4Fig. 5

3/4

Fig. 6Fig. 7

4/4

Fig. 8Fig. 9